

Escuela Superior Politécnica del Litoral

Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

Desarrollo de un biorecubrimiento para la preservación de las propiedades de la
pitahaya a partir de un extracto y residuo agroindustrial

Proyecto Integrador

Previo la obtención del Título de:

Ingeniero Químico

Presentado por:

Andrés Sebastián Gordillo Vega

Yanira Ximena Suárez Reyes

Dirigido por:

Dra. Patricia Manzano Santana, PhD.

Guayaquil - Ecuador

Año: 2024

Dedicatoria

Dedico este proyecto a Dios por guiarme y darme sabiduría para no rendirme.

A mi mamá Mariuxi que con su sacrificio diario y valentía me ha dado la oportunidad de lograr uno de mis más grandes anhelos, quien me ha brindado su amor y apoyo incondicional en este arduo camino.

A mi hermana Noelia que siempre me ha acompañado en mis momentos más difíciles y me ha dado mucha felicidad.

A Elba Violeta que con su amistad incondicional desde pequeña me motivó siempre a cumplir con mis objetivos. Y a mis amigos por creer en mí y darme los mejores momentos de esta experiencia.

A mis abuelitos Napoleón y Adelita, que desde el cielo sé que están orgullosos de todo mi esfuerzo y de este gran logro. Sus enseñanzas siempre vivirán en mí.

Y a Chester por ser mi fiel compañero en esas noches de estudio.

Yanira Suárez

Dedicatoria

A mi familia y amigos, mi fuente inagotable de amor y fortaleza. Gracias por estar a mi lado en cada momento, compartiendo risas, apoyándome en los desafíos y celebrando cada logro. Su presencia en mi vida ha sido fundamental, brindándome el aliento necesario para seguir adelante y superar cualquier obstáculo. Este logro es un reflejo del cariño, la confianza y el apoyo que siempre me han brindado. Les dedico esto con todo mi corazón

Andres Gordillo

Agradecimientos

Queremos agradecer a Dios por darnos la oportunidad de culminar esta etapa universitaria. A nuestros padres por ser el apoyarnos en nuestras decisiones y ser parte fundamental de este logro. A nuestros amigos, por los momentos, actividades y experiencias vividas.

A los docentes que con sus enseñanzas impartidas nos han permitido llegar a esta etapa final.

A nuestra tutora Patricia Manzano y a Glenda Piloza por ser parte importante de la realización de este proyecto, y al CIBE por la oportunidad de ganar experiencia.

Andrés Gordillo

Yanira Suárez

Declaración Expresa

Nosotros Andrés Sebastián Gordillo Vega y Yanira Ximena Suárez Reyes acordamos y reconocemos que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor o autores.

La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí/nosotros durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me/nos corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de mi/nuestra innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique a los autores que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 30 de mayo del 2024.



Andrés Gordillo Vega



Yanira Suárez Reyes

Evaluadores

Ing. Nadia Flores

Profesor de Materia

Patricia Manzano, PhD.

Tutor de proyecto

Resumen

La conservación de la pitahaya amarilla durante el almacenamiento y transporte la vuelve susceptible a enfermedades fúngicas, lo que conlleva al uso no controlado de fungicidas lo cual genera residuos en los alimentos y provocan intoxicaciones. En el presente estudio se propone formular un biorecubrimiento antifúngico a partir de un extracto y residuo agroindustrial para la preservación de sus propiedades organolépticas en frutos pitahaya postcosecha. Mediante maceración y destilación se obtuvieron los extractos y residuos; evaluándolos *in vitro* frente a *Collectotrichum musae* y *Lasiodiplodia theobromae*; y se aplicó un diseño central compuesto para la combinación óptima de esta mezcla. El extracto *Sapindaceae* a 1 mg/mL inhibió en un 52.27% el *Collectotrichum musae*, y el residuo *Lamiaceae* al 20% en un 100% ambos fitopatógenos. La metodología de respuesta se empleó para obtener la combinación exacta de estos componentes para su elaboración del biorecubrimiento y posterior evaluación *in vivo*. Los datos mostraron una mejora en las propiedades del fruto, reduciendo en un 52.27% la pérdida de peso, un 22.58% la velocidad de maduración y un 41.67% la incidencia de la enfermedad en comparación al control negativo. Estos resultados respaldan a este biorecubrimiento como una alternativa sostenible y eco-amigable en comparación con métodos convencionales.

Palabras Clave: Extracción, fitopatógenos, inhibición y biorecubrimiento.

Abstract

The conservation of the yellow pitahaya during storage and transport becomes susceptible to fungal diseases, which leads to the uncontrolled use of fungicides, which generates residues in food and causes poisoning. In the present study, it is proposed to formulate an antifungal biocoating from an extract and agroindustrial residue for the preservation of its organoleptic properties in postharvest pitahaya fruits. Extracts and residues were obtained by maceration and distillation; evaluating them in vitro against *Collectotrichum musae* and *Lasiodiplodia theobromae*; and a central composite design was applied for the optimal combination of this mixture. The Sapindaceae extract at 1 mg/mL inhibited *Collectotrichum musae* by 52.27%, and the Lamiaceae residue at 20% inhibited both phytopathogens by 100%. The response methodology was used to obtain the exact combination of these components for the preparation of the biocoating and subsequent in vivo evaluation. The data showed an improvement in the properties of the fruit, reducing weight loss by 52.27%, ripening speed by 22.58% and disease incidence by 41.67% compared to the negative control. These results support this biocoating as a sustainable and eco-friendly alternative compared to conventional methods.

Keywords: Extraction, phytopathogens, inhibition and biocoating.

Índice general

Resumen	I
Abstract	II
Índice general	III
Abreviaturas	VII
Simbología	VIII
Índice de figuras	IX
Índice de tablas.....	X
Capítulo 1	1
1. Introducción	2
1.1 Descripción del problema.....	3
1.2 Justificación	4
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo general.....	5
1.3.2 Objetivos específicos.....	5
1.4 Marco teórico.....	6
1.4.1 Pitahaya	6
1.4.2 Sapindaceae	6
1.4.3 Residuo de Lamiaceae y orégano	9
1.4.4 Biorecubrimientos comestibles	10
Capítulo 2	13

2.	Metodología	14
2.1	Revisión bibliográfica.....	15
2.2	Preparación de la materia prima vegetal.....	15
2.3	Diseño experimental de los procesos utilizados	15
	Tabla 2.1	15
2.4	Métodos de extracción.....	16
2.4.1	<i>Maceración</i>	16
2.4.2	<i>Extracción hidroalcohólica asistida por ultrasonido</i>	17
2.5	Obtención del residuo agroindustrial residuo de <i>Lamiaceae</i> y orégano.....	18
2.6	Actividad antifúngica <i>in vitro</i>	18
2.6.1	<i>Preparación de medios de cultivo</i>	18
2.6.2	<i>Actividad antifúngica in vitro de extractos y residuos agroindustriales</i>	19
2.7	Diseño de mezcla.....	19
2.7.1	<i>Metodología de superficie de respuesta</i>	20
2.7.2	<i>Diseño central compuesto (DCC)</i>	20
2.8	Perfil antioxidante.....	22
2.8.1	<i>DPPH· Actividad antioxidante</i>	22
2.8.2	<i>Poder antioxidante reductor férrico (FRAP)</i>	23
2.8.3	<i>Determinación del contenido fenólico total (TPC)</i>	23
2.9	Formulaciones de los biorecubrimientos comestibles	23
2.10	Evaluación <i>in vivo</i> de los biorecubrimientos	24

2.11	Propiedades físicas de la pitahaya	24
2.11.1	<i>Pérdida de peso</i>	25
2.12	Herramientas de análisis estadísticos.....	25
Capítulo 3		27
3.	Resultados y Análisis	28
3.1	Rendimiento de los métodos de extracción	28
3.2	Actividad antifúngica <i>in vitro</i>	29
3.2.1	<i>Extracto de Sapindaceae frente a Collectotrichum musae</i>	29
3.2.2	<i>Extracto de Sapindaceae frente a Lasiodiplodia theobromae</i>	32
3.2.3	<i>Residuo de Lamiaceae y orégano frente a Collectotrichum musae y</i> <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	34
3.3	Diseño de mezcla.....	38
3.3.1	<i>Actividad antifúngica de las muestras y formula óptima</i>	38
3.4	Perfil antioxidante.....	41
3.5	Pruebas <i>in vivo</i>	41
3.5.1	<i>Pérdida de peso</i>	41
3.5.2	<i>Color</i>	43
3.5.3	<i>Incidencia de la enfermedad</i>	45
3.6	Análisis de Costos	47
Capítulo 4		50
4.	Conclusiones y Recomendaciones	51
4.1	Conclusiones.....	51

4.2	Recomendaciones	52
5.	Referencias	54

Abreviaturas

A	Agar
AA	Ácido acético
ANOVA	Análisis de varianza
CH	Quitosano
CIBE	Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
CM	<i>Collectotrichum musae</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
HT	Residuo de <i>Lamiaceae</i>
LT	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>
PDA	Papa dextrosa agar
SS	<i>Extracto de Sapindaceae</i>

Simbología

cm	Centímetros
g	Gramos
lb	Libras
L	Litros
mg	Miligramo
mL	Mililitros
μL	Microlitros
RPM	Revoluciones por minuto
°C	Temperatura
xg	Fuerza centrífuga relativa

Índice de figuras

Figura 1.1 <i>Partes del árbol del Sapindaceae</i>	7
Figura 1.2 <i>Lamiaceae y Orégano</i>	9
Figura 2.1 <i>Ruta de trabajo</i>	14
Figura 2.2 <i>Extracto de Sapindaceae-Maceración</i>	17
Figura 2.3 <i>Extracto de Sapindaceae-Hidroalcohólica</i>	17
Figura 2.4 <i>Residuos agroindustriales utilizados en las pruebas antifúngicas</i>	18
Figura 2.5 <i>Diseño central compuesto para dos factores</i>	21
Figura 3.1 <i>Rendimientos obtenidos de las réplicas en los métodos de extracción</i>	28
Figura 3.2 <i>Resultados de la actividad antifúngica del extracto de Sapindaceae para el C. musae</i>	31
Figura 3.3 <i>Resultados de la actividad antifúngica del Sapindaceae en Lasiodiplodia theobromae</i>	32
Figura 3.4 <i>Resultados obtenidos de los residuos en la Lasiodiplodia theobromae</i>	36
Figura 3.5 <i>Resultados de la actividad antifúngica de los residuos en el Collectotrichum musae</i>	37
Figura 3.6 <i>Estadísticos obtenidos de los resultados de las pruebas en R</i>	39
Figura 3.7 <i>Superficie de respuesta del modelo de potencial antifúngico</i>	40
Figura 3.8 <i>% Pérdida de peso de la pitahaya en los diferentes tratamientos</i>	42
Figura 3.9 <i>Resultados de los cambios de color medidos por RGB en los diferentes tratamientos</i>	43
Figura 3.10 <i>Incidencia de la enfermedad en los tratamientos en la pitahaya</i>	44

Índice de tablas

Tabla 1.1 Empleo del Sapindaceae en síntesis de compuestos.....	7
Tabla 1.2 Actividad antifúngica del extracto de Sapindaceae.....	8
Tabla 1.3 Actividad antifúngica de los residuos.....	10
Tabla 1.4 Películas a base de quitosano y agar que han sido reportados.....	11
Tabla 2.1 Diseño experimental de los procesos aplicados	21
Tabla 2.2 Diseño central compuesto para dos factores.....	22
Tabla 2.3 Puntos axiales del diseño central compuesto.....	23
Tabla 3.1 Resultados de los rendimientos de las extracciones y valores de otros autores	28
Tabla 3.2 Resultados de la inhibición del Sapindaceae en el crecimiento micelial del <i>Collectotrichum musae</i>	30
Tabla 3.3 Resultados de la actividad antifúngica del Sapindaceae en el crecimiento micelial de la <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	32
Tabla 3.4 Resultados de la actividad antifúngica de los residuos frente a los fitopatógenos de estudio.....	34
Tabla 3.5 Porcentajes de inhibición de las combinaciones proporcionadas por el diseño central compuesto.....	38
Tabla 3.6 Actividad antifúngica de la combinación óptima frente a los fitopatógenos de estudio.....	40
Tabla 3.7 Perfil antioxidante de la combinación óptima obtenida.....	41
Tabla 3.8 Porcentajes de pérdida de peso en otros biorecubrimientos.....	42
Tabla 3.9 Porcentajes de incidencia de la enfermedad en otros biorecubrimientos.....	43
Tabla 3.10 Costos de producción de los extractos por método.....	45
Tabla 3.11 Costos de obtención del residuo de Lamiaceae.....	46

Tabla 3.12 *Costos asociados a la elaboración de un IL de biorecubrimiento* 45

Capítulo 1

1. Introducción

La pitahaya es una fruta tropical exótica que posee actividades biológicas potenciales ya que presentan componentes bioactivos (Al-Mekhlafi et al., 2021). En el Ecuador, la producción de pitahaya es de gran importancia, las primeras exportaciones se realizaron en el 2014 en pequeños volúmenes, llegando a un punto de inflexión en 2017 por su apertura en el mercado estadounidense (PRO ECUADOR, 2016). En el país se cultiva en un 90% pitahaya amarilla y en un 10% la roja, siendo la primera (*Selenicereus sp.*) de mayor demanda debido a su sabor, calidad y propiedades nutraceuticas (Ascencio Bricio, 2020; Córdova Oñate & Castro Arteaga, 2022). Anualmente, más de 23.000 toneladas son exportadas, siendo cultivadas en más de 3 mil hectáreas, convirtiéndonos en uno de los mayores exportadores (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2023).

Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería en el 2021 la pitahaya en conjunto con otras frutas contribuyó con el 0.5% al Valor Agregado Bruto (VAB) Agropecuario, siendo de gran influencia para el PBI del país (Arias Inca et al., 2021); y el 0.6% en las exportaciones no petroleras, data que la ubica como la segunda fruta de exportación después del banano. Sin embargo, la producción enfrenta desafíos debido a la susceptibilidad de contraer enfermedades en el almacenamiento y transporte, lo que implica grandes pérdidas (Lozada et al., 2022). La antracnosis y la muerte regresiva son unas de las más conocidas causadas por los hongos *Collectotrichum musae* y *Lasiodiplodia theobromae* (Vargas et al., 2020).

Para el control de estas enfermedades los productores utilizan productos que son en un 77% químicos y un 23% orgánicos (Ruiz Agila, 2022). Además, se realiza tratamiento de desinfección postcosecha con hipoclorito de sodio y agua; y, para conservar el valor nutricional del producto su almacenamiento en frío, procesos que causan alteraciones fisiológicas no favorecedoras para el mercado (Verona-Ruiz et al., 2020). Adicional, también

emplean tratamientos en agua caliente, el cual si reduce la lesión, pero genera pequeños cambios en la calidad de la fruta (Morillo Coronado et al., 2022). Por lo que se realiza la búsqueda de nuevas alternativas naturales, inocuas y amigables con el ambiente como lo es el uso de biorecubrimiento comestibles a base de extractos naturales.

1.1 Descripción del problema

La presencia de enfermedades fúngicas en los cultivos de pitahaya ocasiona pérdidas en producción del 30% y económicas del 44% en países en vía de desarrollo (Valencia-Botín et al., 2013; Vásquez et al., 2016). Un estudio realizado sobre de la pérdida postcosecha en dos variedades de pitahaya dio como resultado que el 1.5% se descarta debido al mal manejo y a las condiciones climáticas (Vásquez et al., 2016).

La antracnosis es una enfermedad perjudicial que afecta la planta y el fruto siendo un factor que limita el desarrollo del cultivo. Esta se presenta como manchas circulares de color amarillo pálido en el tallo y manchas de color café rojizo en el centro (Vargas et al., 2020). Se expande desde base del fruto y en casos avanzados se puede visibilizar la estructura del hongo *Collectotrichum musae*. La presencia de la *Lasiodiplodia theobromae* en los cultivos causa cancrrosis del tallo y ramas, pudrición e incluso la muerte de la planta (Yumbla Crespo, 2022). Estas enfermedades disminuyen el rendimiento de la producción, debido a los costos y a las pérdidas ocasionadas, afectando la calidad y limitando la comercialización dentro y fuera del país (Bello et al., 2022).

En la actualidad, el método más convencional para el control de estas enfermedades y evitar pérdidas de cultivo es el uso de fungicidas sintéticos como el benzimidazol, tiabendazol, imazalil y tebuconazole (Vilaplana et al., 2017). El uso excesivo de estos químicos genera residuos provocando riesgos que además comprometen la sostenibilidad de los sistemas agrícolas (Bello et al., 2022), y una gran preocupación en la salud pública, dado a que en altas concentraciones provocan intoxicaciones (Verona-Ruiz et al., 2020).

1.2 Justificación

Como se ha mencionado, el uso de fungicidas en los sistemas agrícolas genera residuales en los alimentos amenazando la inocuidad alimentaria. En este sentido, las autoridades de Seguridad Alimentaria de la Unión Europea (EFSA, por sus siglas en inglés) en el 2021, publicaron una tabla con data alarmante en donde el 3.9% de las muestras analizadas contenían residuos que excedían sus respectivos límites máximos (Carrasco Cabrera et al., 2023). Según estimaciones de la Organización Mundial de Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la salud (OPS), cada año las intoxicaciones agudas causadas por los plaguicidas ocurren alrededor de 3 millones de veces, de las cuales 220 mil aproximadamente son casos de mortalidad. Por lo tanto, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en conjunto con la Unión Europea incentivan la minimización de estos productos por sus riesgos asociados (Yagual et al., 2023).

Como se conoce, la agricultura enfrenta serios desafíos de sostenibilidad, causados por la dependencia de insumos químicos, seguido de los mercados exigentes, que a través de organismos reguladores hacen cumplir estándares de producción específicos. Esto incentiva al fortalecimiento de alternativas más sostenibles como el desarrollo de productos que incluyan extractos vegetales con propiedades antifúngicas (Bullor et al., 2023).

Por otro lado, la agroindustria ecuatoriana es un sector de participación económica fundamental, que a medida que crece también los hacen los residuos de su producción y que representan una fuente de compuestos bioactivos como polifenoles, vitaminas y pectinas que a falta de investigaciones no son aprovechados (Idrovo-Novillo et al., 2018).

La implementación de biorecubrimientos comestibles en los últimos años ha alcanzado avances y aplicaciones importantes. Estos forman una barrera semipermeable que permite reducir la pérdida de agua y de soluto, retardar los cambios químicos, y controlar el intercambio de gases como el O₂ y CO₂, parámetros que influyen en la estabilidad química y

microbiológica del alimento (Solano-Doblado et al., 2018). En la actualidad, la adición de extractos vegetales y residuos agroindustriales a los biorecubrimientos es de gran interés, debido a la gran variedad de sustancias naturales que han demostrado su actividad biológica para la conservación de los alimentos (Kola & Carvalho, 2023; Nunes et al., 2023).

Existen reportes de que el extracto de *Sapindaceae* posee una eficacia antifúngica en contra de la antracnosis (Gasca et al., 2020; Passos Marinho et al., 2018). En el caso de residuo *Lamiaceae* los estudios de (Duarte Pasaguay et al., 2022; Pilozo Muentes, 2023), en contra de la pudrición de la fruta . De acuerdo, con investigaciones el extracto crudo de rizoma de cúrcuma, dukung anak y jengibre también tiene la efectividad contra de la antracnosis en la pitahaya.

Esta propuesta presenta una alternativa potencial de reducir la dependencia a los productos químicos, dando un enfoque más sostenible que contribuye eficazmente al ambiente, la salud pública y al cumplimiento de la demanda de producción. Además de proporcionarle un valor agregado al producto, generando competitividad y dando acceso a mercados internacionales (Muñoz Vera & Tapia Buñay, 2022).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Formular un biorecubrimiento a base de extractos naturales y residuos agroindustriales para la mejora de las propiedades organolépticas de la Pitahaya amarilla “*Selenicereus sp.*” en período postcosecha.

1.3.2 Objetivos específicos

- Comparar la eficiencia de los métodos de extracción hidroalcohólica y maceración del pericarpio del fruto de *Sapindaceae* en términos de rendimiento y efectividad antifúngica.

- Determinar la combinación óptima del extracto y residuo agroindustrial que exhiba actividad antifúngica frente a fitopatógenos utilizando un diseño central compuesto.
- Valorar la eficiencia del biorecubrimiento en la preservación de la fruta postcosecha.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Pitahaya

La pitahaya (*Selenicereus sp.*) es una fruta tropical, se distribuye de manera amplia en mercados dentro de América, estos productos incluso están presentes en el continente Asiático (Huachi et al., 2015). Se caracteriza por su corteza de color amarillo con espinas y una pulpa blanca y aromática con pequeñas semillas negras (Sena et al., 2014). En el ámbito nutricional es una fuente de antioxidantes naturales, mucilagos, ácido ascórbico, fenoles, vitamina del grupo B y C. Es rica en minerales como calcio, fósforo, hierro, tiene alto contenido en agua y posee proteína vegetal y fibra soluble (Cardoso, 2023).

Los agentes causales que afectan la producción de la pitahaya en su mayoría son los hongos, tanto en precosecha y postcosecha, y como consecuencia podredumbre, cicatrices en la corteza y manchas marrones. Entre los principales patógenos que afectan la pitahaya están (Balendres & Bengoa, 2019; Oeurn et al., 2015):

- *Alternaria alternata*
- *Lasiodiplodia theobromae*
- *Phomopsis sp.*
- *Bipolaris cactivora*
- *Fusarium spp.*
- *Neoscytalidium dimidiatum*
- *Collectotrichum spp.*
- *Cladosporium cucumerinum*

1.4.2 Sapindaceae

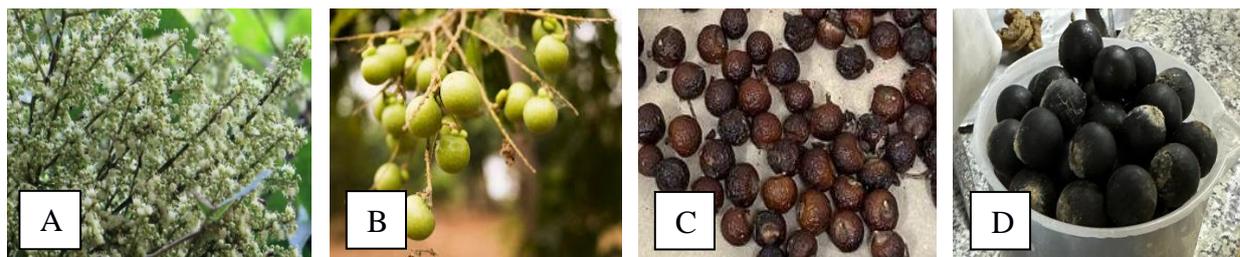
Sapindus es un género de arbustos y árboles pequeños perteneciente a la familia *Sapindaceae*, está comprendido de tres especies una americana *Sapindaceae* y dos asiáticas *Sapindus mukorossi* y *Sapindus trifoliatus* (Abreu, 2005).

El *Sapindus saponaria* es también conocida como jaboncillo occidental, fruta de sabao y saboneteiro, dependiendo de la región de cosecha. En estudios realizados acerca de las actividades fotoquímicas y biológicas, se han identificado que posee una gran cantidad de compuestos como flavonoides, fenoles, ácidos grasos y saponinas. Esta última es el grupo activo considerado responsable de los efectos biológicos que se han observado, tanto en experimentos *in vitro* e *in vivo* demostrando propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias y espermicidas (Goyal, 2014).

La *Tabla 1.1* detalla el empleo de género *Sapindaceae*, destacando su contribución en la extracción de compuestos bioactivos. Este enfoque ha sido fundamental, resaltando así la importancia de este recurso natural en la síntesis de compuestos beneficiosos para distintas áreas.

Figura 1.1

Partes del árbol de la familia Sapindaceae



Nota. (A) Flores, (B) Fruto verde, (Universidad EIA, 2022), y (C) Fruto maduro, (D) Semilla

Tabla 1.1

Empleo del Sapindaceae en síntesis de compuestos

Elemento	Método de extracción	Función	Referencias
Pericarpio	Maceración en etanol 1:6 (p/v)	Bioplaguicida	(Gasca et al., 2020)
Pericarpio	Hidroalcohólica asistida por ultrasonido en 50% etanol 1:6 (p/v)	Biosurfactante	(Bezerra et al., 2021)

Hojas	Mezcla de 100 g de hojas en 1000 mL de agua	Potencial alelopático	(Grisi et al., 2012)
Hojas	Maceración en agua:etanol en proporción 1:3 por 7 días	Bioplaguicida	(Passos Marinho et al., 2018)
Tallo	Percolación con etanol durante 72 horas	Potencial larvicida	(Fernandes et al., 2005)

La *Tabla 1.2* detalla la actividad antifúngica de la familia *Sapindaceae* en diversas aplicaciones, mostrando su efectividad en contra de hongos fitopatógenos que causan enfermedades en diversos cultivos.

Tabla 1.2

Actividad antifúngica del extracto de Sapindaceae

Elemento	Método de extracción	Técnica	Inhibición	Referencias
Pericarpio	Maceración en etanol 1:6 (p/v)	Difusión en disco de Kirby-Bauer	14.18 ± 1.44 mm contra <i>C. musae</i> Significativa	(Gasca et al., 2020)
Hojas	Mezcla de 100 g de hojas en 1000 mL de agua	Difusión en agar	<i>Echinochloa crus-galli</i> y <i>Ipomoea grandifolia</i>	(Grisi et al., 2012)
Hojas	Maceración en agua:etanol en proporción 1:3 por 7 días	Medio inhibido	80% de inhibición contra <i>C. gloeosporioides</i>	(Passos Marinho et al., 2018)

Tallo	Maceración en etanol al 100%	Papel filtro	99% de inhibición contra <i>B. microplus</i>	(Fernandes et al., 2005)
-------	------------------------------	--------------	--	--------------------------

1.4.3 Residuo de *Lamiaceae* y orégano

Las especies de la familia *Lamiaceae* son consideradas como planta medicinal por sus propiedades biológicas y farmacológicas, que incluyen actividades antiinflamatorias y antimicrobianas (Alcívar Bazurto et al., 2021). En cuanto al residuo de *Lamiaceae* posee compuestos como el timol y carvacrol, en menor concentración que los aceites esenciales, pero efectivos contra fitopatógenos (Duarte Pasaguay et al., 2022; Pabon-Montoya et al., 2024). En cambio, el orégano es utilizado en la elaboración de cosméticos, fármacos y licores (Arcila-Lozano et al., 2004). El cuanto al residuo de orégano (*Oreganum vulgare*) conserva compuestos volátiles y solubles en agua, posee propiedades antioxidantes, antimicrobianas, demostrando ser efectivo en la disminución de microorganismos como estafilococos y enterobacterias (García Ángeles et al., 2022). Su uso en la agricultura ofrece una alternativa más segura para combatir enfermedades fúngicas, aunque requiere determinar concentraciones óptimas para maximizar su eficacia.

Figura 1.2

Lamiaceae y Orégano



Nota. (A) Planta de *Lamiaceae* y (B) Planta de orégano, Tomado de (Burke, 2021; Gimeno, 2008)

Tabla 1.3

Actividad antifúngica de los residuos

Compuesto activo	Técnica	Inhibición	Referencias
Residuo de <i>Lamiaceae</i> al 5% (v/v)	Medio envenenado	42.1 ± 1.2 mm contra <i>Collectotrichum sp.</i>	(Pabon-Montoya et al., 2024)
Residuo de orégano al 5% (v/v)	Medio envenenado	41.9 ± 1.3 mm contra <i>Collectotrichum sp.</i>	(Pabon-Montoya et al., 2024)
Residuo de <i>Lamiaceae</i> al 50% (v/v)	Medio envenenado	100% de inhibición contra <i>L. theobromae</i>	(Duarte Pasaguay et al., 2022)
Residuo de orégano al 50% (v/v)	Medio envenenado	21.05% de inhibición contra <i>L. theobromae</i>	(Duarte Pasaguay et al., 2022)

1.4.4 Biorecubrimientos comestibles

Los biorecubrimientos son una capa delgada que se crea alrededor del alimentos mediante el uso del método de inmersión en una solución especial (Torrenegra et al., 2017). Se conocen también como biopelículas, estos prolongan la vida útil de frutas en el período postcosecha. Poseen características organolépticas y nutricionales, están compuesto por polisacáridos, proteínas, lípidos o una combinación de ellos. La adición de agentes microbianos o antioxidantes mejora su potencial (Aguilar-Duran et al., 2020).

1.4.4.1 Quitosano. El quitosano es uno de los polisacáridos más utilizados debido a su alta actividad antimicrobiana, biodegradabilidad y perfil no tóxico. Está constituido por unidades de N-acetil D-glucosamina y D-glucosamina, obtenido de la desacetilación parcial de la quitina. Es un polímero catiónico natural que permite la producción de estructuras multicapa formando biopelículas. Puede actuar como un portador de sustancias bioactivas como compuestos polifenólicos, aceites esenciales o extractos vegetales para el desarrollo de nuevos materiales con propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Muñoz-Tebar et al., 2023).

1.4.4.2 Gelatina. La gelatina es una proteína soluble en agua, que tiene una amplia capacidad de formación de películas, flexibilidad, biodegradabilidad y barrera contra los gases. Es utilizado como material para la elaboración de envasado de alimentos. Sin embargo, se mezcla con otros compuestos debido a que las películas suelen ser débiles y deformables (Pham et al., 2023).

Tabla 1.4

Películas a base de quitosano y agar que han sido reportados

Compuesto bioactivo	Proporciones	Preparación	Resultados	Referencias
Aceites esenciales (AE)	2% CH, 1% AA, 2% gelatina, 30% glicerol y 2% AE	Agitación constante durante la preparación y secar a 25 °C durante 48 horas	Mejora significativa de la actividad antioxidante de las películas, aplicaciones en envasado activo	(Roy et al., 2023)
Extracto de fruta de	2% (p/v) CH, 1% (v/v) AA, 2% (p/v)	Agitación continua a 50°C durante 1 hora	Mejora las propiedades mecánicas, de	(Kan et al., 2019)

espino chino (EC)	gelatina, 30% glicerol y 2% EC	y secar durante 48 horas	barrera y antioxidantes de las películas	
Aceite de Tomillo (AT)	1% CH (p/v), 1% AA, 1% A (p/v) y 1% AT (v/v)	Casting	Redujo la pérdida de frutos y tuvo un mayor efecto fungistático en el control de hongos en postcosecha en el aguacate “Hass”	(Madera-Santana et al., 2023)
Aceite de canela (EC)	2% (p/v) CH, 1.5% (p/v) glicerol, 2% (p/v) CaCl ₂ , 1% (p/v) Aas, 1% (p/v) AC, y 0.6% (v/v) EC.	Casting	Efecto inhibitorio en contra del <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	(Sarengaowa et al., 2022)

Nota. CH: quitosano, AA: ácido acético, A: agar, Aas: ácido ascórbico, AC: ácido cítrico y

CaCl₂: cloruro de calcio alimentario.

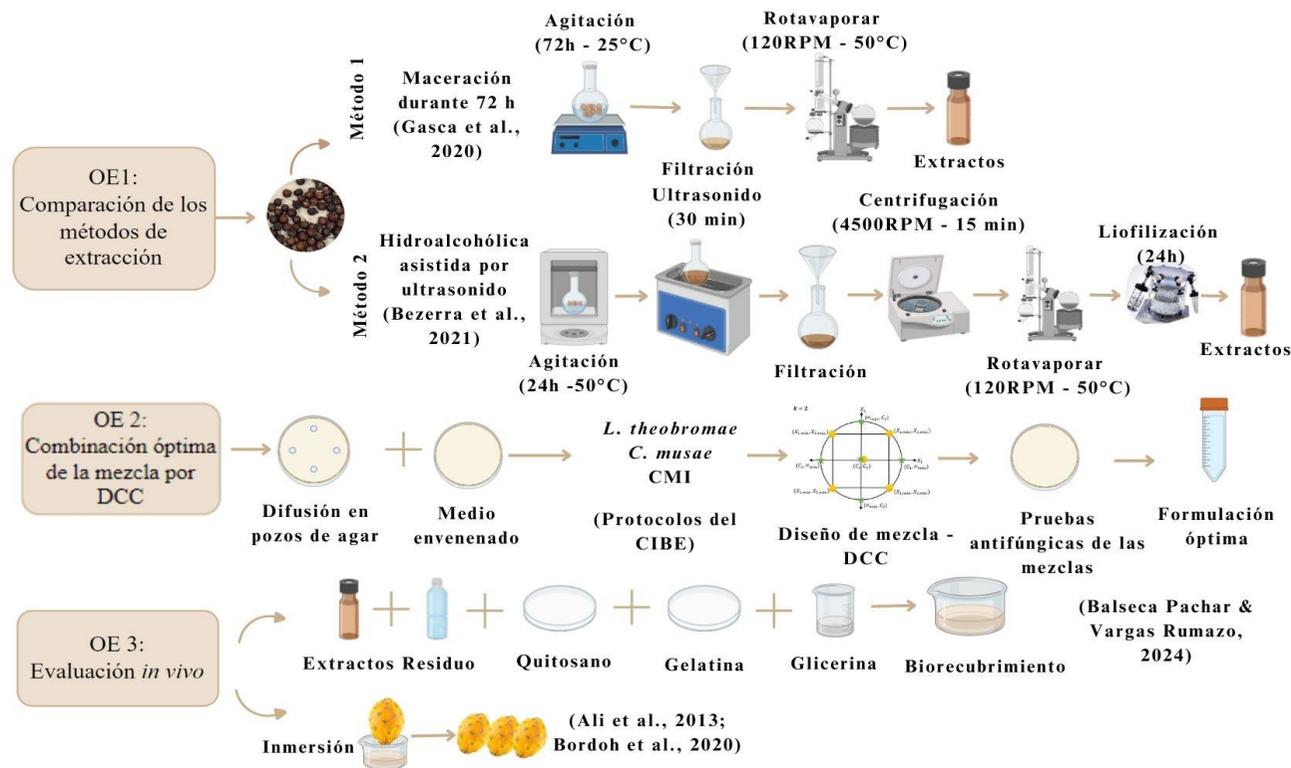
Capítulo 2

2. Metodología

En la *Figura 2.1* se muestra la ruta de trabajo, la cual se inicia con la revisión bibliográfica de los puntos más importantes del proyecto, seguido de la metodología dividida en tres secciones: 1. Comparación de los métodos de extracción para un mayor rendimiento y efectividad antifúngica; 2. El diseño de mezcla indicando la combinación óptima del extracto y residuo mediante pruebas *in vitro*, y 3. La preparación y evaluación *in vivo* de los biorecubrimientos.

Figura 2.1

Ruta de trabajo



2.1 Revisión bibliográfica

La revisión de artículos científicos de biorecubrimientos en diversas frutas para su conservación permitió elegir aquellos que beneficien la preservación de la calidad del producto. Para ello, se tomó en consideración los métodos de extracción, la actividad antifúngica en contra de fitopatógenos, los componentes de los biorecubrimientos, las técnicas aplicadas y el efecto *in vivo*. Múltiples de los artículos revisados incluían la incorporación de aceites esenciales en los biorecubrimientos por sus propiedades antifúngicas y como métodos alternos de protección. Sin embargo, eran escasos los que incluían extractos vegetales como el *Sapindus saponaria* e hidrolato de tomillo. En este estudio, se propone su evaluación en contra de las enfermedades a las que está expuesta la pitahaya en el Ecuador.

2.2 Preparación de la materia prima vegetal

El fruto del *Sapindus saponaria* fue secado en una estufa de recirculación de aire a 55°C durante 6 horas. Se separó el pericarpio de la semilla y fue procesado en un molino. Se granuló la masa y se procedió al pesado. Esto se almacenó en el desecador hasta su uso.

2.3 Diseño experimental de los procesos utilizados

Tabla 2.1

Diseño experimental de los procesos utilizados

Proceso	Método	# Réplicas
Extracción	Maceración (Gasca et al., 2020)	4
	Hidroalcohólica asistida por ultrasonido (Bezerra et al., 2021)	
Pruebas antifúngicas	Difusión en pozos de agar	4

	Medio envenenado	3
		5 excepto el punto central el cual se replicó 8 veces
Diseño de mezcla	Medio envenenado	
Perfil antioxidante	DPPH - FRAP - TPC (Pilozo et al., 2024; Viteri et al., 2021)	4
Propiedades físicas de la pitahaya	%PP - Color – ID (ABUGHRIN et al., 2022; Ali et al., 2013; Osuna Enciso et al., 2011)	4 (cada 7 días). La ID cada 14 días.

2.4 Métodos de extracción

El extracto de *Sapindus saponaria* se obtuvo mediante la aplicación de los siguientes procesos de extracción como la maceración y la extracción hidroalcohólica asistida por ultrasonido. Se realizaron los procesos por cuadruplicado para la repetibilidad de los datos.

2.4.1 Maceración

Para este primer proceso se siguió la metodología propuesta por (Gasca et al., 2020) con ciertas modificaciones. La materia vegetal se maceró con etanol al 100% en proporción 1:6 (pericarpio: solvente) durante 72 horas con agitación constante a 110 RPM y temperatura ambiente. Luego, se filtró utilizando la filtración por gravedad con papel filtro y se procedió a la eliminación del solvente utilizando el rotavapor a 50 °C y 120 RPM. Finalmente, el

extracto purificado obtenido fue diluido y almacenado en frascos ámbar a 4°C. Tal como se muestra en la *Figura 2.2*.

Figura 2.2

Extracto de Sapindaceae -Maceración



Nota. A) Maceración y B) Extractos

2.4.2 Extracción hidroalcohólica asistida por ultrasonido

Para este segundo proceso, se utilizó la metodología propuesta por (Bezerra et al., 2021) con algunas modificaciones en la proporción y velocidad de agitación. La materia vegetal fue macerada con etanol al 50% en proporción 1:6 (pericarpio: solvente) bajo agitación durante 24 horas a 50 °C y 110 RPM. Luego, fue sometida a un baño ultrasónico durante 30 minutos, se filtró por gravedad con papel filtro y fue centrifugada durante 10 minutos a 4500 RPM. Se recuperó el solvente alcohólico utilizando el rotavapor a 50 °C y 120 RPM y para el acuoso se liofilizó durante 48 horas. Finalmente, se diluyó y se almacenó en frascos ámbar a 4 °C. Tal como se muestra en la *Figura 2.3*.

Figura 2.3

Extracto de Sapindaceae - Hidroalcohólica asistida por ultrasonido



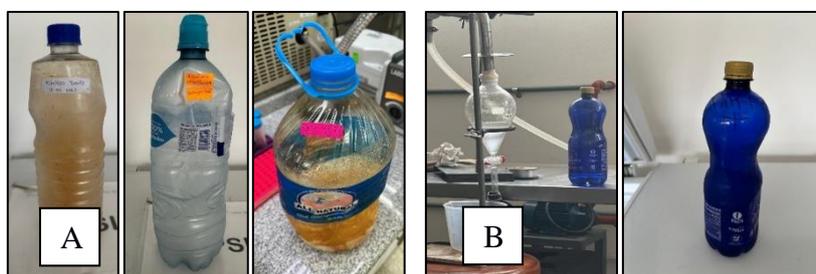
Nota. A) Hidroalcohólica y B) Extractos

2.5 Obtención del residuo agroindustrial residuo de *Lamiaceae* y orégano

Los residuos agroindustriales utilizados fueron obtenidos en proyectos previos del CIBE en el año 2022 y enero 2024, en temporada seca. Además, se hizo una nueva destilación de *Lamiaceae* en el mes de mayo del 2024 aplicando la metodología propuesta por (Duarte Pasaguay et al., 2022; Muzzio Villafuerte et al., 2021). En este se utilizó 7 lb de *Lamiaceae* y 10 L de agua en una olla de destilación, la recolección y separación del aceite con el hidrolato se la realizó usando un embudo de decantación. El tiempo aproximado del proceso fue de 2 horas. Se almacenó en botellas de plástico y se congeló hasta su uso.

Figura 2.4

Residuos agroindustriales utilizados en las pruebas antifúngicas



Nota. A) Residuos proporcionados por el CIBE y B) Destilación y obtención del residuo de *Lamiaceae*.

2.6 Actividad antifúngica *in vitro*

2.6.1 Preparación de medios de cultivo

El medio papa dextrosa y agar (PDA) fue elegido por ser altamente nutritivo, permitir esporulación y producción de pigmentos. Se preparó acorde a las instrucciones del fabricante, aplicando 39 g de PDA en 1000 mL de agua destilada y autoclavado durante 1 hora con 15 min para su esterilización. Posterior a esto, se envía a la estufa a 70°C. La distribución del medio se lo realiza vertiendo 15 mL/caja. La preparación se repitió para cada evaluación antifúngica.

2.6.2 Actividad antifúngica in vitro de extractos y residuos agroindustriales

Los extractos de *Sapindaceae* y el residuo de *Lamiaceae* fueron evaluados en contra de los fitopatógenos *Collectotrichum musae* y *Lasiodiplodia theobromae*. El primer método empleado fue el de difusión en pozos de agar, el cual consiste en perforar asépticamente orificios de 5 mm en el medio de cultivo con ayuda de un perforador de corcho estéril (Balouiri et al., 2016). Se realizaron cuatro perforaciones en cada pocillo se depositó un volumen de 30 µl del extracto de *Sapindaceae* con una concentración de 0.2, 1, 5 y 10 mg/mL. Para el caso de los residuos se colocó la máxima concentración y se inocularon los fitopatógenos.

El segundo método empleado fue el medio envenenado aplicado solo para el residuo de *Lamiaceae* en el control de ambos fitopatógenos. Este consiste en introducir una cantidad de volumen del residuo en el medio ya esterilizado antes de la solidificación (Erhonyota et al., 2023). En este caso, el medio contenía un 20, 25 y 50% del residuo, posterior a su solidificación se inocularon los fitopatógenos. Las pruebas se incubaron a 27°C durante tres a siete días.

Una vez verificada la actividad antifúngica del extracto de *Sapindaceae*, se buscó cuál era su concentración mínima inhibitoria (CMI), por lo que se evaluó 1 mg/mL en medio envenenado. Lo mencionado, fue aplicado a las réplicas del método que presentó los mejores resultados. Como control positivo se utilizó Tunic (0.05% v/v), y como control negativo, el solvente de extracción. Los datos del crecimiento obtenidos fueron medidos mediante el programa de ImageJ.

2.7 Diseño de mezcla

Mediante un diseño experimental de mezcla se obtienen las combinaciones necesarias, las cuales fueron evaluada *in vitro* con el fin de conocer su eficiencia en la

inhibición de los fitopatógenos de estudio y tratar estos resultados estadísticamente para obtener la combinación óptima entre el extracto y residuo.

2.7.1 Metodología de superficie de respuesta

Se utilizó debido a su capacidad para modelar y analizar el problema. En este estudio, la variable de respuesta de interés fue el porcentaje de inhibición del crecimiento de los fitopatógenos, el cual se vio influenciado por las variables de extracto de *Sapindus saponaria* y el hidrolato de tomillo, esto busca la optimización de estos resultados. Por lo que, se debe encontrar una aproximación adecuada. De acuerdo con el valor obtenido del coeficiente de determinación o índice de bondad de ajuste R^2 , se aplicó el modelo que más se ajustaba a la respuesta. En este caso, un modelo de segundo orden por la presencia de curvatura. Para ello, se empleó un diseño con la capacidad de ajustarse a diversas superficies (Montgomery, 2013).

“Función de primer orden”:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \epsilon \quad (2.1)$$

“Función de segundo orden”:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon \quad (2.2)$$

2.7.2 Diseño central compuesto (DCC)

Se aplicó este diseño, por su capacidad de ajustar superficies de respuesta de segundo orden. Este consistió en una factorial 2^k con corridas factoriales n_f , corridas axiales o en estrella $2k$ y corridas centrales n_c , representado gráficamente en la *Figura 2.5*. Se especificó la distancia de los ejes axiales desde el centro y el número de puntos centrales (Menéndez et al., 2008; Montgomery, 2013). Posee ortogonalidad, rotabilidad y uniformidad. El diseño rotatable le proporcionó igual precisión de estimación en todas las direcciones. Se logró la rotación mediante la elección del α , el cual dependía del número de puntos en la porción

factorial. Se recomendó realizar de tres a cinco corridas por combinación. (Carmona Gallegos, 2008; Montgomery, 2013)

“Constante alfa codificada, representada por”:

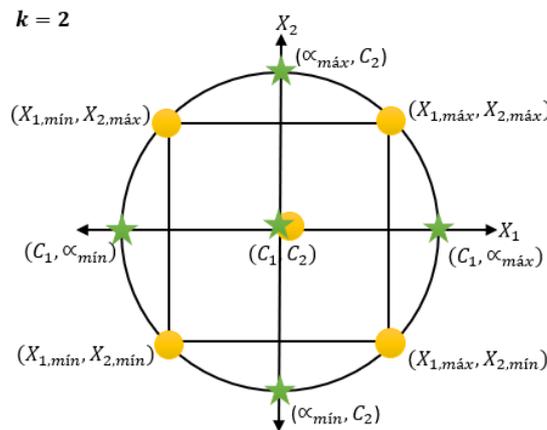
$$\alpha = (n_f)^{\frac{1}{4}} \quad (2.3)$$

“Obtención de los puntos axiales del diseño, mediante”:

$$Axiales = \frac{Máximo-Mínimo}{2} * \alpha + C_o \quad (2.4)$$

Figura 2.5

Diseño central compuesto para dos factores



Este diseño consistió en dos componentes o factores, k=2: el extracto de *Sapindus saponaria* y el residuo agroindustrial que fue el hidrolato de tomillo. Debido a esto, el valor del $\alpha = 1.4142$, de acuerdo con constantes ya tabuladas. Esto se comprobó sustituyendo los valores en la ecuación 2.3. En la Tabla 2.2, se muestra que los puntos centrales utilizados fueron las concentraciones mínimas inhibitorias que se obtuvieron en las pruebas antifúngicas individuales de los fitopatógenos. Como valores máximos y mínimos de cada componente se planteó para el extracto de *Sapindaceae* un rango de ± 0.05 mg/mL y para el residuo de *Lamiaceae* uno de ± 5 %.

Tabla 2.2

Datos empleados el diseño central compuesto

Componentes	Extracto de <i>Sapindaceae</i> (mg/mL)	Residuo de <i>Lamiaceae</i> (%)
Límite máximo	1.5	25
Punto central	1	20
Límite mínimo	0.5	15

En la *Figura 2.5* se observa cuatro puntos axiales, uno central y cuatro relacionados con los límites altos y bajos de cada componente, lo que resulta en un total de nueve combinaciones. Reemplazando los datos de la *Tabla 2.2* y la constante α en la *ecuación 2.4*, se obtuvieron los valores de la *Tabla 2.3*. Las combinaciones se denominaron de la A hasta la I y se la evaluó contra la *Lasiodiplodia theobromae*, considerado el fitopatógeno más fuerte. Con el objetivo de recopilar más datos, se realizaron cinco repeticiones de cada mezcla y luego se analizaron con el software R para determinar la combinación óptima.

Tabla 2.3

Puntos axiales del diseño central compuesto

Alfa codificada	Axiales máximos	Axiales mínimos
1,414	27,07	0,1707
-1,414	12,93	0,0293

2.8 Perfil antioxidante

2.8.1 DPPH· Actividad antioxidante

La capacidad de remover el radical DPPH se determinó con el procedimiento descrito por (Pilozo et al., 2024; Viteri et al., 2021). Se mezcló 50 μ L de la muestra con 150 μ L de una solución de DPPH (0.156mM) disuelta en metanol. Se incubó en la oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego, se midió la absorbancia a 517 nm en el lector de microplacas (Cytation™ 5, BioTek). Se levantó una curva de calibración con Trolox y los

resultados fueron expresados en μM de equivalente de Trolox/L de muestra aplicando la ecuación $y = 0.7704x - 2.3701$ ($R^2 = 0.9983$).

2.8.2 Poder antioxidante reductor férrico (FRAP)

La capacidad antioxidante se la determinó usando el método de reducción de hierro descrito por (Viteri et al., 2021). La solución FRAP se la preparó en proporción 10:1:1 (v/v/v) mezclando buffer acetato 300 mM (pH 3,6), una solución de TPTZ 10 mM que disolvió en ácido clorhídrico 40 mM y una solución de cloruro férrico 20 mM. Se mezcló 20 μL de la muestra con 180 μL de la solución FRAP. Se incubó en la oscuridad durante 20 minutos a 25°C. Luego, se midió la absorbancia a 600 nm (Cytation™ 5, BioTek). Se levantó la curva de calibración con Trolox, añadiendo un blanco y los resultados se expresaron en μM de equivalente de Trolox/L de muestra, aplicando la ecuación $y = 0.002x + 0.0126$ ($R^2 = 0.9939$).

2.8.3 Determinación del contenido fenólico total (TPC)

Se determinó usando el método de Folin-Ciocalteu descrito por (Piloza et al., 2024; Viteri et al., 2021). Se mezcló 20 μL de la muestra con 100 μL del reactivo de FC (1:10 v/v) y 80 μL de una solución de Na_2CO_3 (7.5%). Esta solución se incubó durante 60 minutos a temperatura ambiente. Luego, se midió la absorbancia de la solución a 760 nm en un lector de microplacas (Cytation™ 5, BioTek). Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalente/L de la muestra aplicando la ecuación $y = 0.0053x + 0.0226$ ($R^2 = 0.998$).

2.9 Formulaciones de los biorecubrimientos comestibles

Para la elaboración de este biorecubrimiento se utilizó el procedimiento propuesto por (Balseca Pachar & Vargas Rumazo, 2024) con algunas modificaciones. Se preparó una solución de quitosano al 1.5 % (p/v) en ácido acético al 1% (v/v), con agitación constante durante 5 horas a 40°C. Seguido, se añadió 2 g de gelatina a la solución preparada de quitosano y se la dejó agitando durante 1 hora a 50°C. Luego, se añadió 0.45 mL de glicerina

a la mezcla como plastificante con agitación durante 15 minutos. Se ajustó la concentración del extracto de *Sapindus saponaria* e hidrolato de tomillo. Por último, se desgasificó la solución mediante un baño ultrasónico durante 15 minutos.

2.10 Evaluación *in vivo* de los biorecubrimientos

La evaluación *in vivo* se realizó aplicando los pasos propuestos por (Ali et al., 2013; Bordoh et al., 2020) con modificaciones. Se seleccionó pitahayas de tamaño y color uniforme, sin ninguna deformidad o síntoma de enfermedad visible. Se necesitó de 140 frutas separadas en 5 grupos sin tratamiento, control negativo y positivo, con recubrimiento (con y sin fitopatógenos). Se lavó la fruta con hipoclorito de sodio (1%), se enjuagó con agua purificada y se secó al aire a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), exceptuando el grupo que no lleva tratamiento. Se preparó una suspensión de esporas vertiendo 5 mL de agua purificada en un cultivo de *C. musae* y *L. theobromae*, y se raspó la superficie con una varilla de vidrio estéril. La solución se filtró, se centrifugó durante 5 minutos a 4000 xg y se ajustó la solución a 10^5 esporas por mL utilizando un hemocitómetro Neubaur. El grupo con recubrimiento y fitopatógenos se inocularon sumergiéndolos durante 1 minuto en la suspensión de esporas preparadas (1×10^5 esporas/mL) y se dejó secar durante 5 horas. Luego se sumergió estos grupos en las soluciones de recubrimiento durante 1 minuto. Se dejó secar al ambiente. Fueron almacenadas en cartones de diez frutas sin separaciones a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y $80 \pm 5\%$ de HR durante 28 días.

2.11 Propiedades físicas de la pitahaya

La pitahaya, es rica en vitaminas, antioxidantes y fibra. Medimos estos parámetros para evaluar la calidad, madurez y propiedades nutricionales de la pitahaya. Estos datos aseguran su atractivo sensorial (sabor, color), beneficios para la salud (antioxidantes, fibra), y

aptitud para el consumo y procesamiento comercial (*FAO Publications Catalogue 2023*, 2023).

2.11.1 Pérdida de peso

El peso promedio indica tamaño y calidad del fruto. Frutos más grandes son comercialmente atractivos y suelen tener más contenido comestible, agua y nutrientes, mejorando su valor y rendimiento (Osuna Enciso et al., 2011). Para esto se midió la pérdida de peso con la siguiente ecuación, donde M_0 y M_f es el peso inicial y final de la fruta respectivamente.

$$(\%) \text{ Pérdida de peso} = \frac{(M_0 - M_f)}{M_0} * 100 \quad (2.5)$$

2.2.1 Color

Se detectó mediante una caja colorimétrica casera compuesta de madera y luces LED de color blanco para capturar imágenes con la cámara de un teléfono inteligente. La intensidad de los píxeles de las imágenes se convirtió en números para su cuantificación utilizando el software ImageJ para un ordenador personal (ABUGHRIN et al., 2022).

2.2.2 Incidencia de enfermedad

La incidencia de enfermedad (ID) muestra el porcentaje de como la fruta va presentando síntomas en cada fitopatógeno sobre el total número de frutas que se aplicaron el método (Ali et al., 2013).

$$ID = \frac{\text{numero frutas infectadas en el tratamiento}}{\text{numero total de frutas en el tratamiento}} * 100 \quad (2.6)$$

2.12 Herramientas de análisis estadísticos

Para las pruebas estadísticas se utilizaron Infostat y R, ya que al ser software de análisis estadístico cubre con las necesidades elementales y permite una mejor interpretación de los resultados (Balzarini et al., 2008). Se aplicó las siguientes pruebas estadísticas: test de Shapiro-Wilk para la normalidad, ANOVA y Tukey, para la varianza y diferencias

significativas entre los métodos empleados en las pruebas realizadas. El nivel de significancia utilizado fue $P > 0.05$. Los datos empleados pasaron previamente por un tratamiento para eliminar los más aberrantes.

Capítulo 3

3. Resultados y Análisis

3.1 Rendimiento de los métodos de extracción

En la *Tabla 3.1* y en la *Figura 3.1* se observa que los rendimientos obtenidos en los procesos de extracción son considerablemente altos y muy similares entre sí. Se verificó que no hay diferencias significativas entre las medias de los métodos ($P>0.05$). Por lo tanto, no se puede determinar cuál es mejor. Debido a esto, se aplicaron las mismas pruebas a los resultados de las actividades antifúngicas.

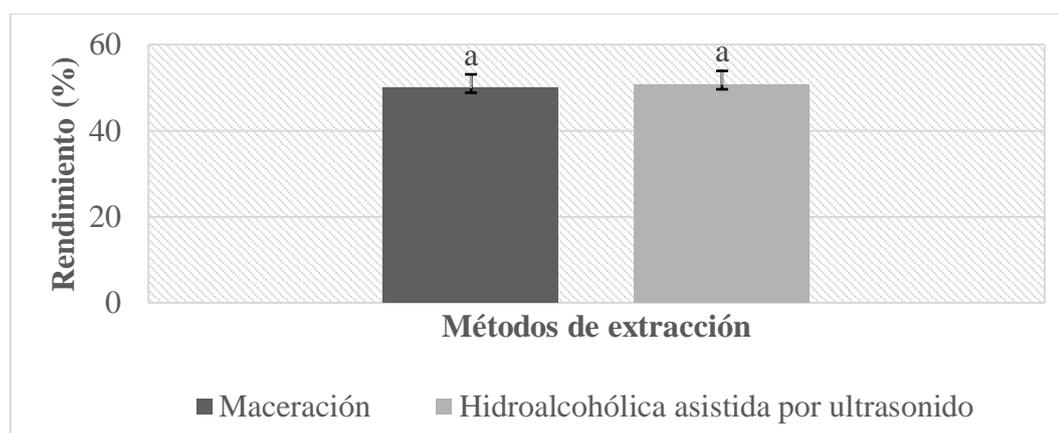
Tabla 3.1

Resultados de los rendimientos de las extracciones y valores de otros autores

Método de extracción	Maceración		Hidroalcohólica asistida por Ultrasonido		
	(Balseca Pachar & Vargas Rumazo, 2024)	(Gasca et al., 2020)	(Bezerra et al., 2021)		
Rendimiento (%)	49.81 ± 0.01	7.00	20.00	50.61 ± 0.03	27.52 ± 0.48

Figura 3.1

Rendimientos obtenidos de las réplicas del extracto de Sapindaceae en los métodos de extracción



Nota. Las letras en minúscula en común según la prueba de Tukey indican no hay diferencias significativas ($P>0.05$)

El rendimiento de ambos métodos representa un incremento significativo. Se observó una mejora de 7.11 veces en comparación con lo reportado por (Balseca Pachar & Vargas Rumazo, 2024). De manera similar, comparado con (Gasca et al., 2020) donde el aumento fue de 2.49 veces, y finalmente, con lo reportado por (Bezerra et al., 2021), que fue 1.84 veces superior. Estas mejoras están relacionadas con el estado inicial; en este caso el Sapindaceae utilizado fue cosechado en estado maduro, sin defectos ni infecciones, y el pretratamiento de la materia vegetal, influyendo en la accesibilidad de los compuestos de interés. Además, el tamaño de la muestra y las condiciones a las que se someten durante los procesos de extracción (Benítez-Benítez et al., 2019). La agitación, el calentamiento y el ultrasonido son procesos que facilitan la ruptura de la barrera, permitiendo la liberación más eficiente de los compuestos bioactivos responsables de la actividad antifúngica. Además, reducen el tiempo de extracción y el uso de recursos, optimizando el proceso.

3.2 Actividad antifúngica *in vitro*

Mediante pruebas antifúngicas *in vitro* se evalúa la eficiencia del extracto y el residuo para el control de los hongos enfermedades más comunes en los cultivos. Además, se conoce cuales son sus concentraciones mínimas inhibitorias, fundamentales para la elaboración del bioproducto.

3.2.1 Extracto de Sapindaceae frente a *Collectotrichum musae*

Los resultados se obtuvieron después de siete días de pruebas y se presentan en porcentaje de inhibición. Para la evaluación se aplicó la técnica de difusión en pozos de agar. La adición del extracto de Sapindaceae en los pozos como agente antifúngico a

concentraciones de 0.2, 1, 5 y 10 mg/mL redujo el crecimiento micelial del *Collectotrichum musae* como se muestra en la *Tabla 3.2*.

Tabla 3.2

Resultados de la inhibición del Sapindaceae frente Collectotrichum musae

Concentración (mg/mL)	Inhibición (%)			
	Maceración		Hidroalcohólica asistida por Ultrasonido	
	(Balseca Pachar & Vargas Rumazo, 2024)	(Gasca et al., 2020)		
10	66.86 ± 2.44	44.17 ± 0.29	-	54.80 ± 1.37
5	60.31 ± 0.99	-	-	51.27 ± 2.38
1	50.67 ± 1.30	-	31.51 ± 0.14	2.63 ± 0.64
0,2	13.30 ± 1.83	-	-	3.05 ± 2.14

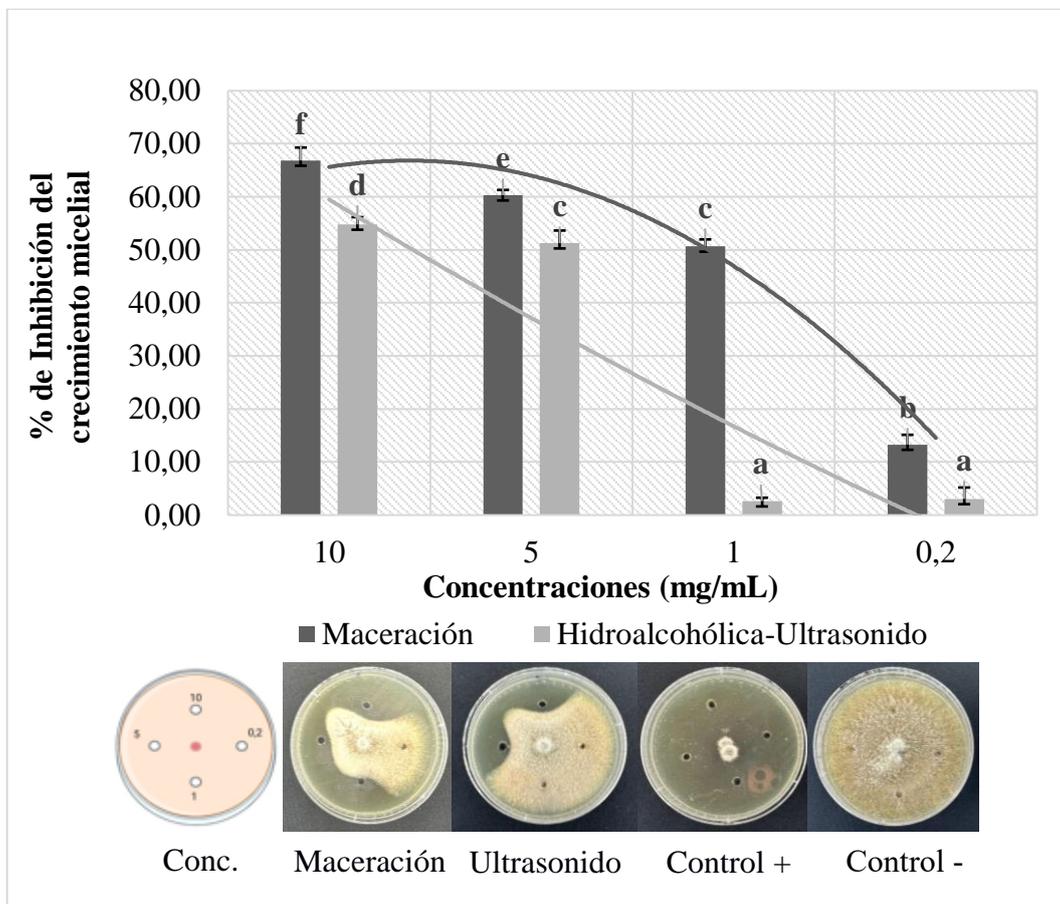
En la *Figura 3.2*, se muestra que el control positivo Tunic (0.05 % v/v) al ser un fungicida comercial tuvo una inhibición de 88.04 ± 16.36 %, y el control negativo, al no poseer antifúngico no presentó inhibición. Se verificó que sí hay diferencias significativas en la efectividad antifúngica de ambos métodos ($P < 0.05$). Esto definió que el método de maceración obtuvo mejores resultados, debido a su mayor capacidad inhibitoria entorno a las concentraciones.

Los resultados son congruentes con lo publicado en otros estudios para este mismo extracto etanólico, donde los valores son favorables para este fitopatógeno. De acuerdo con (Gasca et al., 2020) existe inhibición del crecimiento micelial en concentraciones de 0.5 y 1 mg/mL, y con (Balseca Pachar & Vargas Rumazo, 2024) en 4, 6, 8 y 10 mg/mL.

Comparando los resultados con los de la literatura se puede evidenciar que los porcentajes de inhibición obtenidos son mayores, afirmando con esto que los métodos de extracción elegidos son igual de eficientes para liberar los compuestos bioactivos. Las saponinas son los metabolitos secundarios de la planta que le brindan ese potencial antifúngico. Además, de propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas y antivirales. Esto le permite protegerse de ataques de hongos y le otorga la oportunidad de ser utilizado con fines farmacológicos, alimentarios y cosméticos (Moghimpour & Handali, 2015). No se reportan datos de inhibición del crecimiento micelial (%) en los extractos hidroalcohólicos, lo cual hace relevante el presente estudio.

Figura 3.2

Resultados de la actividad antifúngica del extracto de Sapindaceae para el Collectotrichum musae



Nota. Las letras en minúscula según la prueba de Tukey indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Pruebas *in vitro* de los métodos y los controles en contra de la *C. musae*

3.2.2 Extracto de Sapindaceae frente a *Lasiodiplodia theobromae*

Los resultados se obtuvieron en tres días y se presentan en porcentaje de crecimiento micelial. La técnica aplicada fue la misma que para el otro fitopatógeno. En la *Tabla 3.3*, se observa que en comparación a la evaluación contra el *Collectotrichum musae*, la inhibición del crecimiento micelial de la *Lasiodiplodia theobromae* es muy pequeña para todas las concentraciones.

Tabla 3.3

Resultados de la actividad antifúngica de Sapindaceae en el crecimiento micelial de la Lasiodiplodia theobromae

Concentración (mg/mL) SS	Crecimiento micelial (%)		
	Maceración		Hidroalcohólica
	(Balseca Pachar & Vargas Rumazo, 2024)		
10	85.24 ± 2.26	100.00 ± 0.00	83.22 ± 7.22
5	85.34 ± 1.01	-	80.14 ± 1.80
1	87,43 ± 0.29	-	81.87 ± 7.10
0,2	92,41 ± 0.33	-	86.81 ± 10.06

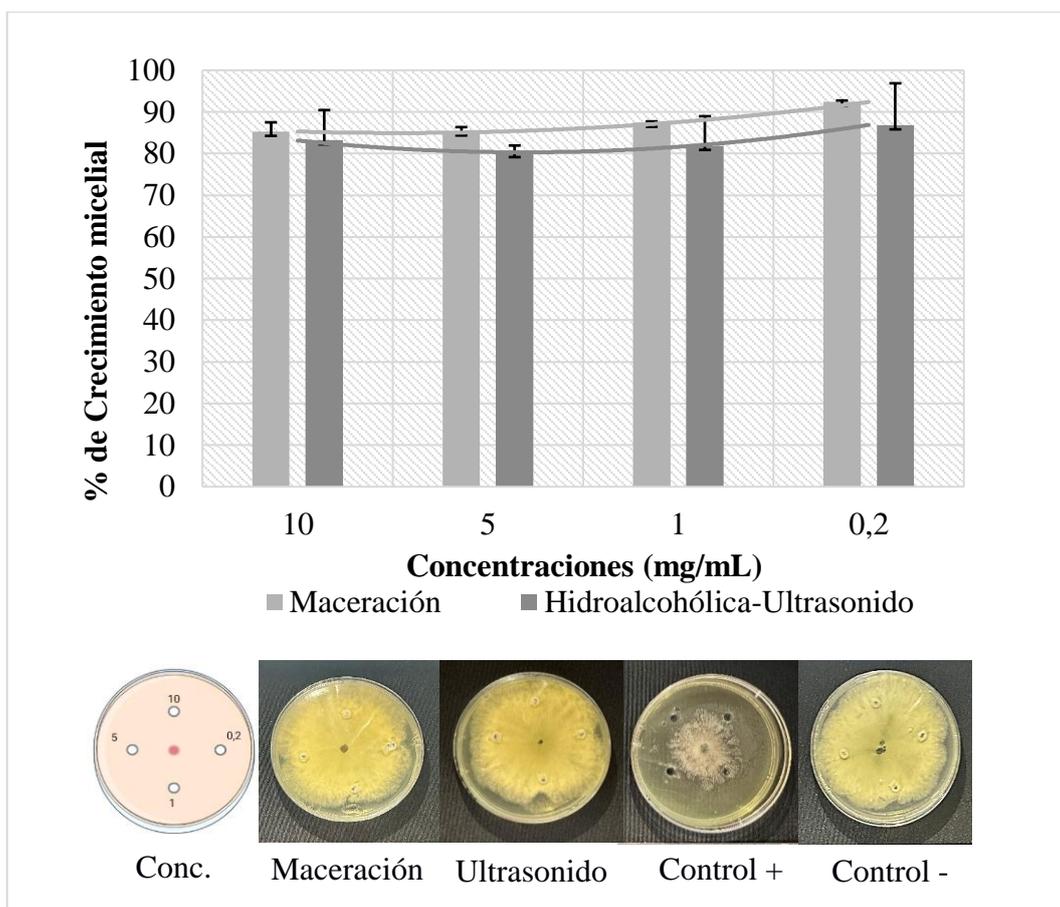
En la *Figura 3.3*, se muestra que el control positivo Tunic (0.05 % v/v) presentó un crecimiento de 41.78 ± 20.64 %, lo que demuestra que a pesar de ser un producto químico no tiene la suficiente capacidad inhibitoria y el negativo al no poseer antifúngico un 96.00 ± 19.39 %. Esto definió que las concentraciones evaluadas del extracto no son considerablemente fuertes en la retención del del crecimiento de este fitopatógeno. Esto

puede relacionarse a que los compuestos bioactivos no actúan sobre el mecanismo de acción que utiliza para crecer y desarrollarse.

Lo obtenido es similar a lo publicado por (Balseca Pachar & Vargas Rumazo, 2024), quienes no presentaron inhibición en sus pruebas. La *Lasiodiplodia theobromae* es considerado un hongo de alto riesgo, ya que desarrolla mecanismos de resistencia entorno a una gran variedad de nuevos agentes antifúngicos debido a su alta variabilidad genética (Yang et al., 2021). La coloración roja presentada en las pruebas depende de factores genéticos y ambientales, la incidencia de la luz, humedad y temperatura (Krah & Schaefer, 2019). No se reportan datos de crecimiento micelial (%) en los extractos hidroalcohólicos, lo cual hace relevante el presente estudio.

Figura 3.3

Resultados de la actividad antifúngica del Sapindaceae en *Lasiodiplodia theobromae*



Nota. Pruebas *in vitro* de los métodos y los controles en contra de la *L. theobromae*

3.2.3 Residuo de *Lamiaceae* y orégano frente a *Collectotrichum musae* y *Lasiodiplodia theobromae*

Los resultados se presentan en términos de porcentaje de inhibición y se obtuvieron en un período de siete días para el *Collectotrichum musae*, y tres para la *Lasiodiplodia theobromae*. La técnica aplicada para las pruebas fue difusión en pozos de agar. En la Tabla 3.4, se muestra que la adición de una concentración del 100% del residuo de *Lamiaceae* 2023 y orégano 2024 a los pozos no redujo considerablemente el crecimiento de ambos fitopatógenos. Por lo tanto, se procedió a aplicar la técnica de medio envenenado, pero en este caso para el residuo de *Lamiaceae* 2022 y el residuo de *Lamiaceae* 2023. Se evaluaron concentraciones del 20, 25 y 50 %. Estas presentaron altos porcentajes de inhibición controlando el crecimiento de ambos fitopatógenos.

Tabla 3.4

Resultados de la actividad antifúngica de los residuos frente a los fitopatógenos de estudio

Residuos	Método	C (%)	Inhibición (%)			
			LT		CM	
			(Duarte Pasaguay et al., 2022)	(Pilozo et al., 2024)		
<i>Lamiaceae</i> (17/5/23)	Difusión en pozos de agar	100	3.81 ± 1.85	-	-	8.22 ± 0.74
Orégano (22/03/24)			4.31 ± 1.74	-	-	6.87 ± 1.71

<i>Lamiaceae</i>			-	100.00 ± 0.00	-	-
(01/06/22)	Medio	50				
<i>Lamiaceae</i>	envenena		100.00 ± 0.00	-	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
(19/7/22)	do	25	79.23 ± 0.54	-	100.00 ± 0.00	59.33 ± 1.49
<i>Lamiaceae</i>			100.00 ± 0.00	-	-	100.00 ± 0.00
(07/05/24)		20	100.00 ± 0.00	-	-	100.00 ± 0.00

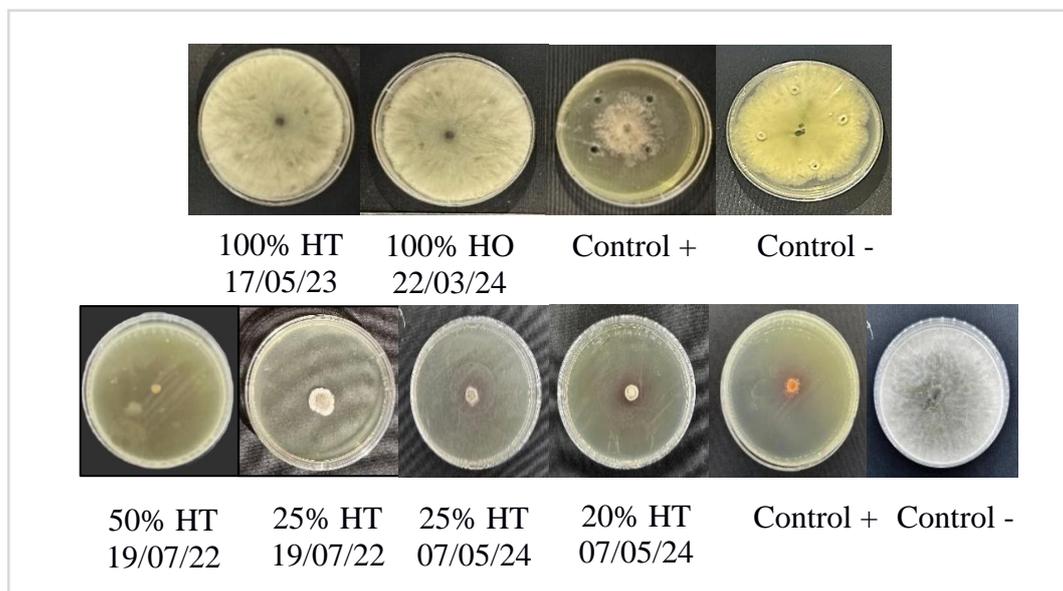
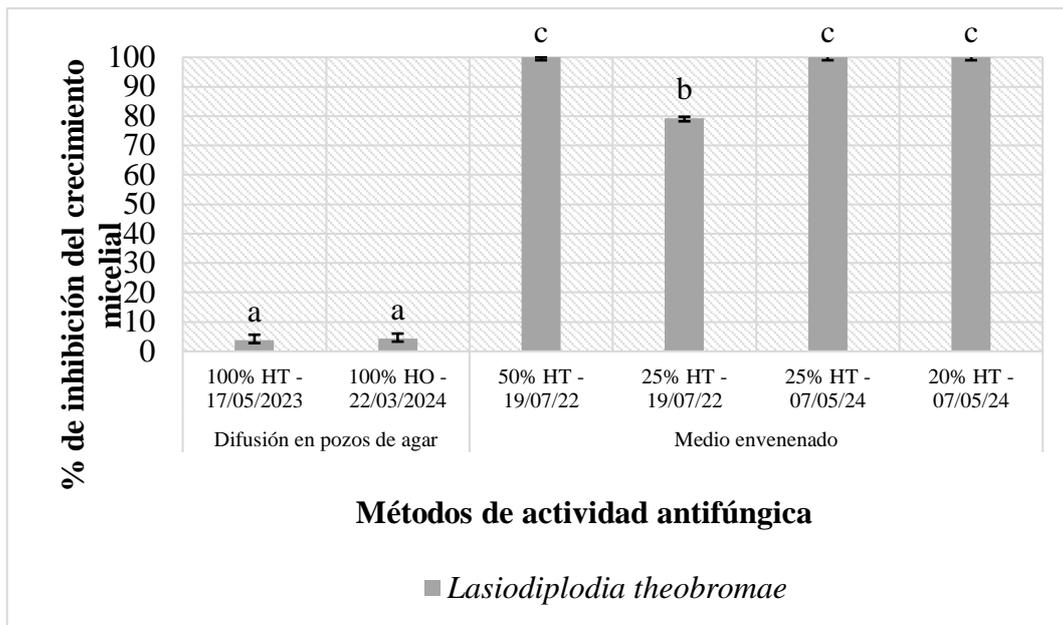
Nota. C: Concentración, LT: *Lasiodiplodia theobromae* y CM: *Collectotrichum musae*

Para la *L. theobromae* el control positivo Tunic (0.05 % v/v) inhibió un 89.61 ± 7.38 % y el negativo un $1.82 \pm 24,24$ %. Para el *C. musae* el control positivo Tunic (0.05% v/v) tuvo un 100% de inhibición, al contrario del control negativo cuyo valor fue de 3.39 ± 13.45 %, tal como se muestra en la *Figura 3.4*. Lo obtenido es similar a lo presentado por (Duarte Pasaguay et al., 2022; Piloza et al., 2024), quienes al 25 y 50 % de concentración tuvieron un 100 % de inhibición para la *L. theobromae*. Comparando las técnicas, el de difusión de pozos de agar no es tan efectivo, debido a que limita la difusión de los residuos a través del agar conduciendo a una subestimación de la actividad antifúngica de estos residuos. Sin embargo, la influencia del origen el material vegetal, condiciones de cultivo, métodos de obtención, y la intervención de compuestos externos pudieron afectar la eficiencia de la técnica.

En las *Figuras 3.4* y *3.5*, se visualiza que el medio envenenado tiene inhibiciones superiores, esto puede deberse a una mayor sensibilidad, precisión y a que sea útil en microorganismos difíciles de cultivar. A la cantidad de componentes de timol y carvacrol que le dan esa capacidad de deteriorar la membrana celular del hongo, prevenir su crecimiento y germinación de esporas. Aumentando su actividad antioxidante, resistencia a patógenos y reduciendo la degradación fisiológica (Vilaplana et al., 2018).

Figura 3.4

Resultados obtenidos de los residuos en la *Lasiodiplodia theobromae*

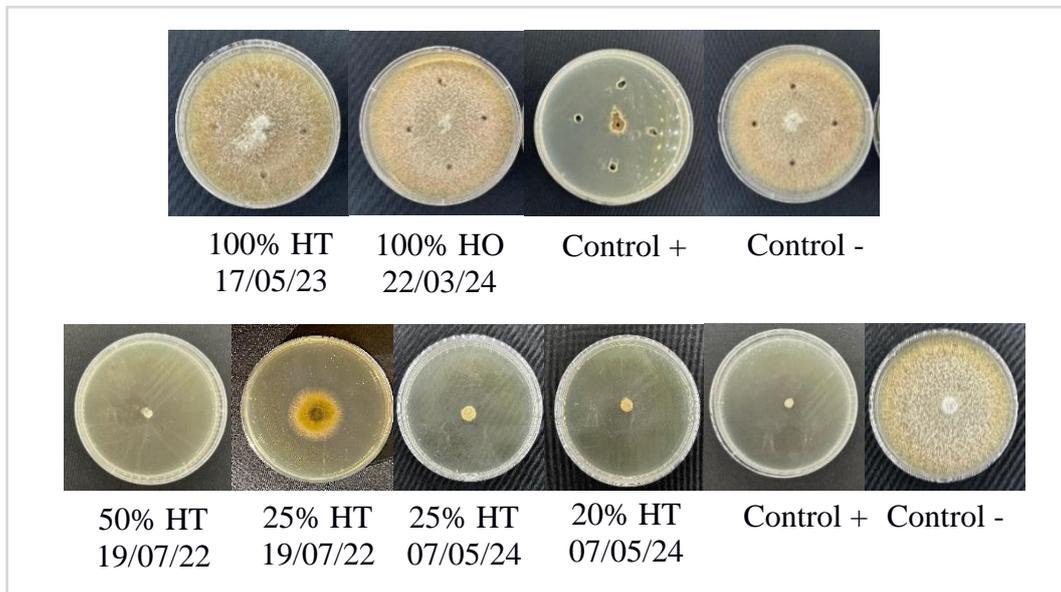
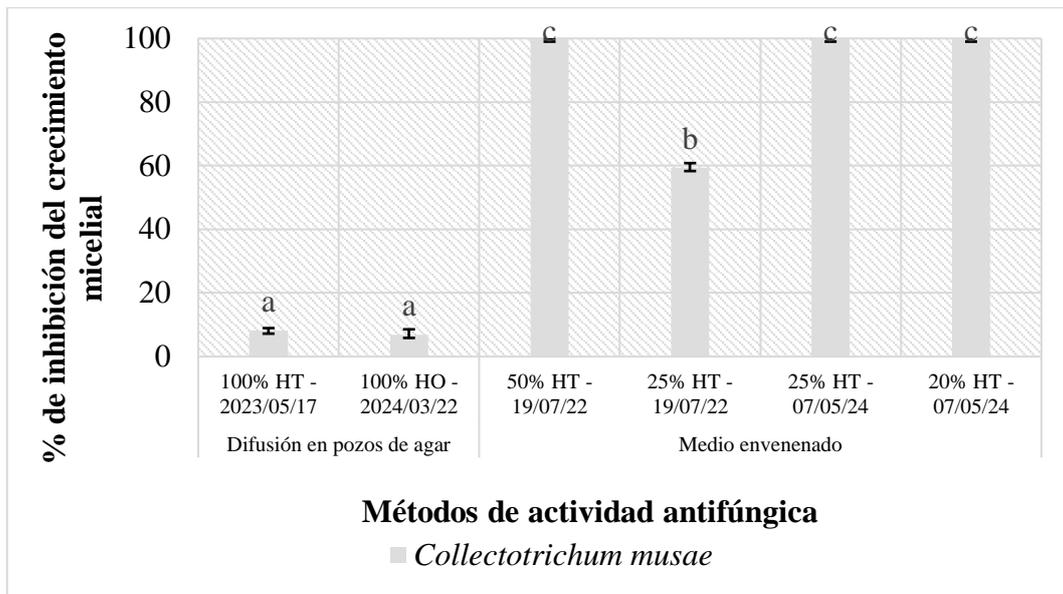


Nota. Las letras en minúscula según la prueba de Tukey indican diferencias significativas

($P < 0.05$). Pruebas *in vitro* de los hidrolatos en *L. theobromae*

Figura 3.5

Resultados de la actividad antifúngica de los residuos en el Collectotrichum musae



Nota. Las letras en minúscula según la prueba de Tukey indican diferencias significativas

($P < 0.05$). Pruebas *in vitro* de los hidrolatos en *C. musae*

3.3 Diseño de mezcla

3.3.1 Actividad antifúngica de las muestras y fórmula óptima

Los resultados se obtuvieron de la evaluación frente a la *Lasiodiplodia theobromae* durante tres días. En la *Tabla 3.5*, se presenta un promedio de la inhibición de las combinaciones derivadas del diseño aplicado, las cuales son altas. Estos valores fueron tratados por el software R con el uso del paquete rsm (Response Surface Methodology) y la aplicación de varios modelos. Esto determinó que el modelo de segundo orden con interacción tenía mayor ajuste.

Tabla 3.5

Porcentajes de inhibición de las combinaciones proporcionadas por el diseño central compuesto

<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	
Muestra	Promedio de Inhibición (%)
A	91.13 ± 5.80
B	84.75 ± 2.15
C	85.70 ± 2.43
D	100.00 ± 0.00
E	95.73 ± 6.03
F	77.44 ± 3.35
G	97.71 ± 4.70
H	100.00 ± 0.00
I	89.84 ± 4.64

En la *Figura 3.6*, se observa que sí hay significancia de las variables lineales, cuadráticas y de interacción en el modelo. Esto nos indica que el punto óptimo se encuentra

dentro del diseño experimental. El análisis de varianza, el R-cuadrado múltiple y ajustado, y el p-value sugiere que el modelo de regresión tiene un buen ajuste. Por lo tanto, los factores considerados son relevantes para comprender las variaciones que hay en la variable dependiente. Este modelo nos proporcionó un punto estacionario de superficie de respuesta presente en la *Figura 3.7* que representa la combinación óptima que proporciona el máximo resultado.

Esto se lo comprobó con la actividad antifúngica presentada frente a los fitopatógenos de estudio *Collectotrichum musae* y *Lasiodiplodia theobromae*, tal como se muestra en la *Tabla 3.6*. En relación, con otras combinaciones aplicadas como agentes antifúngicos al control de forma conjunta o individual de ambos fitopatógenos, la mezcla obtenida sigue siendo igual de eficiente y beneficiosa. La *ecuación 3.1* representa la función del modelo obtenido.

$$0 = 6.2709 + 6.867x - 0.13630x^2 + 180.07y - 1247.9y^2 + 2.6256xy \quad (3.1)$$

Figura 3.6

Estadísticos obtenidos de los resultados de las pruebas en R

```

              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 6.2709e+00 7.0845e+00 0.8851 0.37664
HD          6.7267e+00 6.1595e-01 10.9209 < 2.2e-16 ***
EXT         1.8007e+02 4.2423e+01 4.2446 2.759e-05 ***
HD:EXT      2.6256e+00 1.4882e+00 1.7643 0.07849 .
HD^2       -1.3630e-01 1.4885e-02 -9.1573 < 2.2e-16 ***
EXT^2      -1.2479e+03 1.4885e+02 -8.3841 1.023e-15 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Multiple R-squared:  0.7196,    Adjusted R-squared:  0.7159
F-statistic: 194 on 5 and 378 DF,  p-value: < 2.2e-16

```

Figura 3.7

Superficie de respuesta del modelo de potencial antifúngico

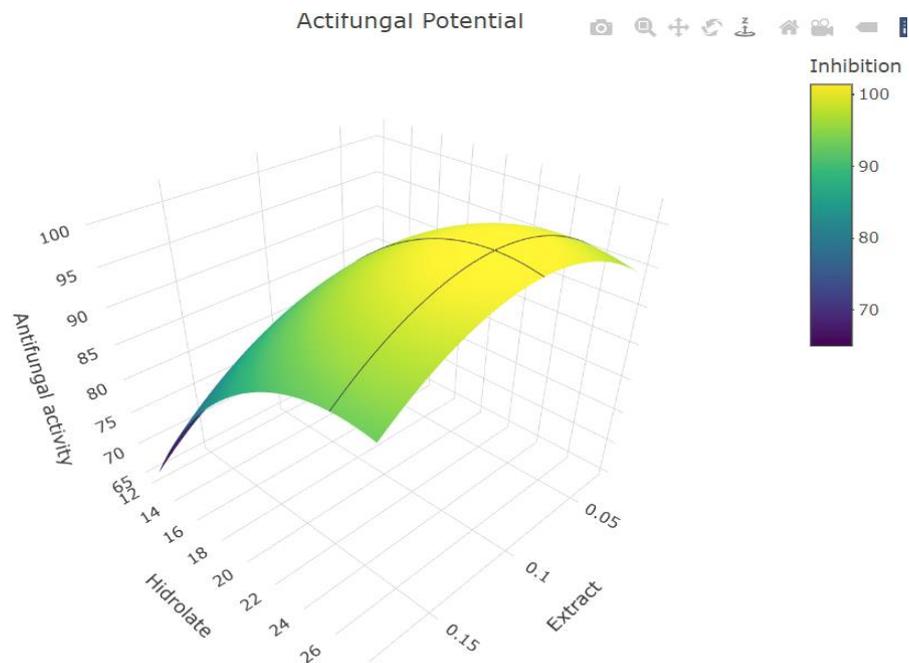


Tabla 3.6

Actividad antifúngica de la combinación óptima frente a los fitopatógenos de estudio

	Inhibición (%)	
	<i>Collectotrichum musae</i>	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>
Combinación óptima	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
SCKU1 yeast (Tongsri et al., 2022)	43.38	40.00
BHA-Imazalil (Khan et al., 2008)	96.00	-
Biol 20% y 10 % (Pizarro et al., 2023)	-	100.0 ± 0.00

3.4 Perfil antioxidante

Se aplicaron tres métodos para obtener el perfil antioxidante de la combinación óptima, como se observa en la *Tabla 3.7*. Los valores obtenidos son diferentes debido a las suposiciones y limitaciones de cada método. Sin embargo, se puede evidenciar que hay presencia de inhibición del radical DPPH·, lo cual se verificó con la disminución de la absorbancia que presentó la mezcla. Así mismo, posee capacidad reductora de un agente oxidante (Fe^{+3}) a su forma reducida (Fe^{+2}), debido el aumento de la absorbancia de la mezcla. Además, tiene muchos compuestos fenólicos en su composición, que son un grupo importante de moléculas con potentes propiedades antioxidantes.

Se debe considerar lo siguiente, una mezcla con una alta capacidad reductora, así como una alta concentración de fenoles totales no necesariamente tendrá alta actividad antioxidante, y viceversa. Esto ocurre, ya que no todos los compuestos fenólicos tienen la misma capacidad antioxidante.

Tabla 3.7

Perfil antioxidante de la combinación óptima obtenida

	DPPH	FRAP	TPC
Inhibición (%)	$\mu\text{MEqT/L}$	$\mu\text{MEqT/L}$	mgEqAG/L
39.64 ± 0.29	54.53 ± 0.37	176.98 ± 3.25	100.50 ± 4.74

3.5 Pruebas *in vivo*

3.5.1 *Pérdida de peso*

La pérdida de peso en el período postcosecha de las frutas es uno de los parámetros de evaluación relacionados con la calidad. Esta pérdida se produce debido a los diferenciales de presión de vapor, los recubrimientos tienden a mantener la calidad de la fruta ya que retienen

una mayor cantidad agua (Ali et al., 2013). En la *Figura 3.8*, se muestra que hay un aumento en la pérdida de peso en los tratamientos aplicados en la pitahaya amarilla. Sin embargo, existe una diferencia significativa ($P < 0.05$) específicamente del control negativo con respecto a los biorecubrimientos y al control positivo. En el día 28, la pérdida de peso para el biorecubrimiento con extracto y residuo fue de 13.35 ± 6.33 %, para el control positivo de 10.54 ± 4.34 %, para el biorecubrimiento sin extracto y residuo de 12.25 ± 4.57 %, y el sin tratamiento de 12.43 ± 6.86 %. Estos tratamientos se comportaron de manera similar entre sí. Esto no ocurrió con el control negativo, ya que tuvo una pérdida de peso de 27.97 ± 17.32 % siendo el más elevado entre todos.

El biorecubrimiento con extracto y residuo ayudó a retrasar en un 52.27 ± 63.45 % la pérdida de humedad en la fruta en relación con la expuesta directamente con los fitopatógenos. Esto se debe a que forma una barrera que impide el paso de las moléculas de agua, evitando la descomposición de fibra, compuestos orgánicos, la pérdida de vitaminas, y minerales. Por lo tanto, lo convierte en una nueva alternativa que beneficia la conservación de la fruta por un tiempo prolongado y reduce el uso de antifúngicos comerciales en la postcosecha. En la *Tabla 3.8*, se muestra que el quitosano se vuelve un protector de la fruta. Sin embargo, su concentración en la matriz del biorecubrimiento tiene gran relevancia para la obtención de una menor cantidad de pérdida de peso.

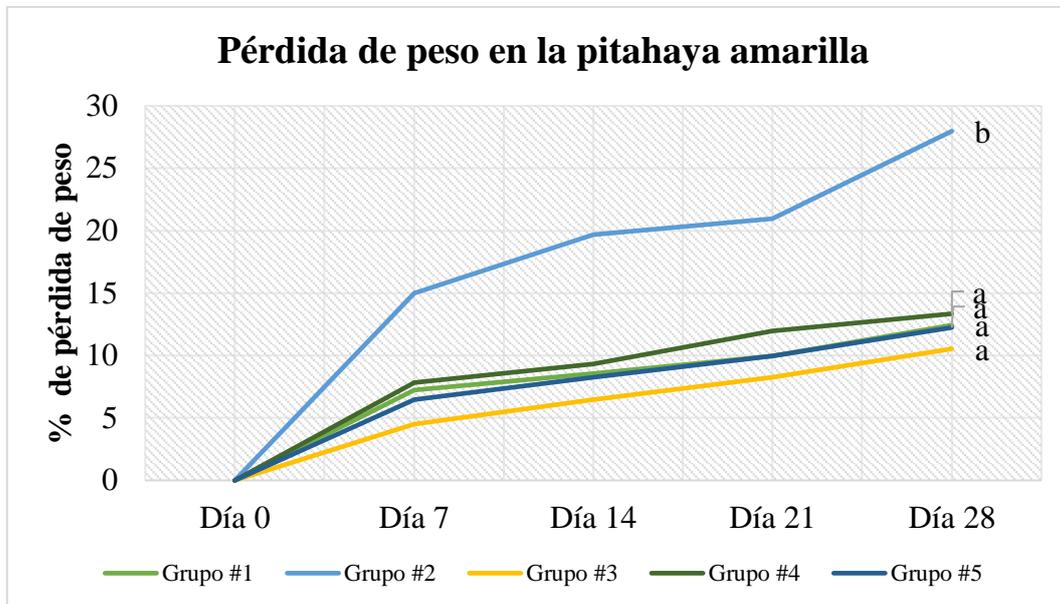
Tabla 3.8

Porcentajes de pérdida de peso en otros biorecubrimientos

Fuente	Pérdida de peso
Quitosano convencional al 1% (Ali et al., 2013)	15.4 %
Quitosano 4% (Cheah et al., 2013)	1%
Quitosano 1.5% (Nguyen et al., 2021)	4%
Quitosano 1% (Ali et al., 2011)	6%

Figura 3.8

% Pérdida de peso de la pitahaya en los diferentes tratamientos



Nota. A) #1 Sin tratamiento, #2 Control negativo, #3 Control Positivo, #4 Biorecubrimiento con extracto y residuo, #5 Biorecubrimiento sin extracto y residuo. B) Las letras en minúscula según la prueba de Tukey indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

3.5.2 Color

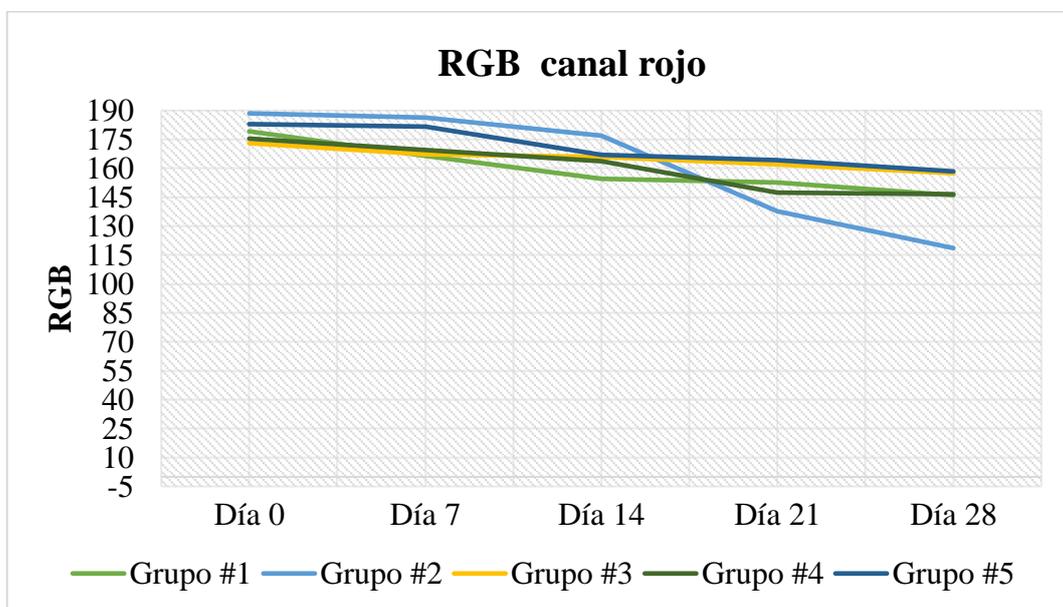
En este parámetro los RGB permite evaluar la calidad y madurez de la fruta como un indicador visual del estado (Restrepo et al., 2023) determinando su intensidad al paso del tiempo 28 días. En la *Figura 3.9*, se observa el cambio de la intensidad del color en el canal rojo, este disminuye en el transcurso de los días en los diversos tratamientos aplicados. El control negativo muestra una reducción mucho más pronunciada en la intensidad en comparación con los otros tratamientos. Este experimenta una rápida pérdida de color entre los días 14 y 21, lo que sugiere que podría estar madurando o deteriorándose más rápidamente que los demás. Esto se refleja en su velocidad maduración de 32.05 RGB/día, siendo la más alta. Por otro lado, el biorecubrimiento con extracto y residuo muestra una

disminución más gradual y uniforme, indicando una tasa de maduración o degradación más lenta y controlada, con una velocidad de maduración de 24.81 RGB/día. Este tiene un comportamiento similar tanto con el control positivo como con el biorecubrimiento sin extracto y residuo.

El biorecubrimiento con extracto y residuo reduce la pérdida de intensidad de color en un 22.59 %, Por lo tanto, es una alternativa de sustitución de los antifúngicos comerciales, proporcionando consigo seguridad alimentaria e innovación en el mercado. Si se compara con la literatura según (Cox et al., 2004) estos parámetros de color dependen principalmente del grado de madurez de las frutas durante el momento de corte y del período de almacenamiento. Por lo tanto, varía dependiendo a cada individuo. Respecto a la calidad, una disminución más gradual en la intensidad del color indica que la fruta se conserva mejor durante un periodo más extenso. En cambio, la rápida pérdida de color se relaciona con una vida útil más corta afectando directamente a la calidad, sabor y propiedades que posee el fruto.

Figura 3.9

Resultados de los cambios de color medidos por RGB en los diferentes tratamientos



Nota. A) #1 Sin tratamiento, #2 Control negativo, #3 Control Positivo, #4 Biorecubrimiento con extracto y residuo, #5 Biorecubrimiento sin extracto y residuo.

3.5.3 Incidencia de la enfermedad

Este parámetro permitió evaluar cómo afectan las enfermedades en la cantidad y calidad de la fruta, y en su producción. Además, se pudo determinar la eficacia de los tratamientos aplicados en este ensayo. En la *Figura 3.10*, se muestra que sí hay diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos. El biorecubrimiento sin extracto y residuo al día 28 presentó un 50.00 ± 0.50 % de incidencia de la enfermedad, esto se puede relacionar a que en su matriz está como componente la gelatina. La propagación de los fitopatógenos se realiza mediante PDA, un medio de cultivo utilizado compuesto por agar, esto lo convierte en un sólido gelatinoso que permite el crecimiento de los microorganismos. Por esto, al aplicar el biorecubrimiento sin ninguna mezcla, la gelatina puede que sea el medio que propicia el crecimiento rápido de los fitopatógenos inoculados. Al añadirle la mezcla óptima con potencial antifúngico al biorecubrimiento disminuye la incidencia en un 41.67 ± 0.00 % en la fruta, en comparación con el control negativo.

En la *Tabla 3.9*, se muestra como el uso del quitosano en biopelículas destinadas a la protección de alimentos tiene un peso importante en la conservación y retraso de enfermedades postcosechas. Sin embargo, necesitan de otro componente para potenciar el producto y conservar el alimento durante un tiempo más prolongado. Por lo que, este producto muestra ser efectivo para el control de plagas y se considera adecuado para su uso en las pitahayas. Debido a que es un producto con componentes naturales seguro para el consumo humano.

En el caso del Tunic aplicado como fungicida está clasificado en la categoría toxicológica III por su ingrediente activo el difenoconazole, siendo ligeramente peligroso

(Maldonado Ontaneda, 2015). Esto fortalece el reemplazo de los agroquímicos por biorecubrimientos naturales ya que proporciona una ventaja significativa en la reducción de los residuos en los alimentos. Por lo tanto, reduce las intoxicaciones severas causantes de diversas enfermedades en el ser humano.

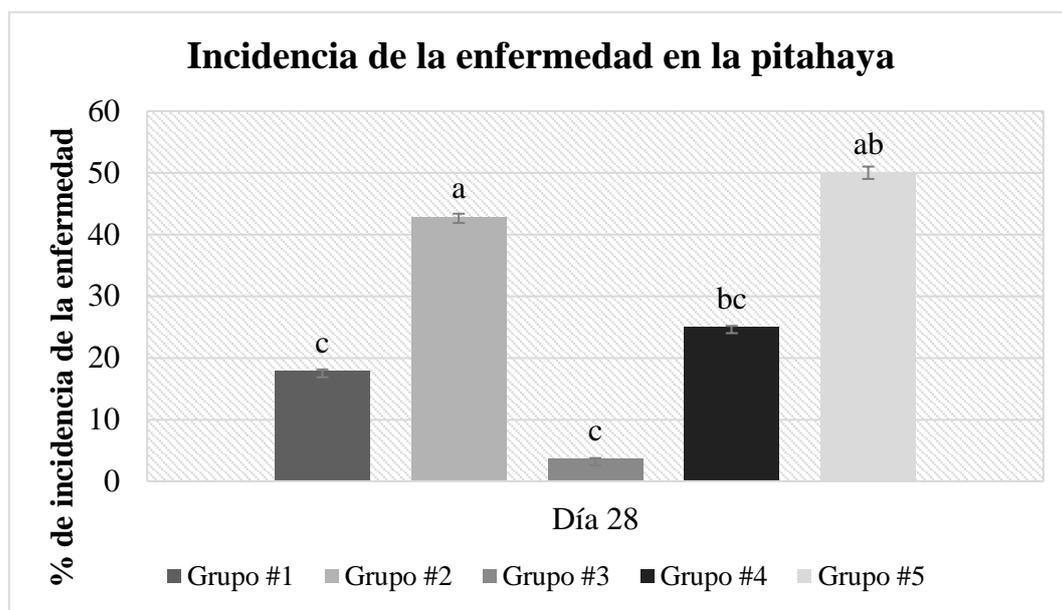
Tabla 3.9

Porcentajes de incidencia de la enfermedad en otros biorecubrimientos

Fuente	Incidencia de la enfermedad
Quitosano convencional 1% (Ali et al., 2013)	93.45%
Quitosano 4% (Cheah et al., 2013)	28%
Quitosano 1.5% (Nguyen et al., 2021)	92.5%
Quitosano 1% (Ali et al., 2011)	49.9%

Figura 3.10

Incidencia de la enfermedad en los tratamientos en la pitahaya



Nota. A) #1 Sin tratamiento, #2 Control negativo, #3 Control Positivo, #4 Biorecubrimiento con extracto y residuo, #5 Biorecubrimiento sin extracto y mezcla. B) Las letras en minúscula según la prueba de Tukey indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

3.6 Análisis de Costos

Los métodos de extracción aplicados fueron comparados en términos de rendimiento y evaluación de su actividad antifúngica, pero a partir de costos de producción también se puede valorar cual es el más eficiente. En la *Tabla 3.10*, se muestra los valores aproximados de costos tomando en cuenta la materia prima y el gasto energético de los equipos para la obtención de 100 mL de extracto. Además, se conoce que su precio comercial por esta cantidad es de \$11.94, comparándolo con los precios de obtención de ambos procesos de extracción permite un ahorro monetario significativo del 47.15% al 68.34%. Por lo que, la aplicación de estas metodologías es rentable, ratificando que el método de maceración al ser el menos costoso favorece el proceso de desarrollo del bioproducto. Esto debido, a que disminuye los costos de producción del biorecubrimiento y el precio de venta.

Tabla 3.10

Costos de producción de los extractos por método

Insumos	Precio	
	Extracción	Hidroalcohólica asistida por ultrasonido
Materia vegetal (80 g)	\$ 0.48	\$0.48
Etanol (mL)	\$ 1.56	\$0.78
Agua (mL)	-	\$0.00008
Costos energéticos (kW/h)	\$1.74	\$5.05
Total, por método	\$3.78	\$6.31
Total/mL	\$0.04	\$0.06
Extracto comercial/100mL		\$11.94

El residuo agroindustrial de tomillo fue donado por el laboratorio del CIBE para sus respectivas pruebas antifúngicas, pero al ser conservado por dos años se obtuvo uno nuevo

mediante la destilación por arrastre de vapor. Los costos de producción de aproximadamente 1.5 L de este componente se muestran en la *Tabla 3.11*. El hidrolato de tomillo fresco contiene una mayor cantidad de compuestos bioactivos que favorecen el control de fitopatógenos. También se conoce que su valor comercial es de \$15.70, comparándolo con las técnicas aplicadas favorecen al proceso y permiten un ahorro monetario del 67.39%.

Tabla 3.1111

Costos de obtención del residuo de Lamiaceae

Insumos	Precio
Materia vegetal (7 Lb)	\$7.50
Agua (10 L)	\$0.004
Costos gas (kg/h)	\$0.18
Total	\$7.68
Total/L	\$5.12
Hidrolato comercial/L	\$15.70

Los costos de producción del biorecubrimiento dependen de la materia prima, el consumo energético, el extracto y residuo, y de los recipientes de almacenamiento. En la *Tabla 3.12*, se muestra en detalle el costo de cada uno de los ingredientes, materiales y equipos utilizados para la obtención de 1L del biorecubrimiento. Los precios varían uno con el otro, por la adición de la mezcla óptima en su matriz. Además, el porcentaje de ganancias del producto es importante para visualizar la recuperación temprana de la inversión. Comparado con precios de antifúngicos comerciales y tratamientos de temperatura resultaría más rentable para el productor el uso de este bioproducto.

Tabla 3.12

Costos asociados a la elaboración de un 1L de biorecubrimiento

Costos asociados	Precio (L)	
	Biorecubrimiento sin extracto y residuo	Biorecubrimiento con extracto y residuo
Costo ácido acético	\$0.24	\$0.24
Costo agua destilada	\$0.25	\$0.18
Costo quitosano	\$4.5	\$4.5
Costo gelatina	\$0.5	\$0.5
Costo glicerina	\$0.02	\$0.02
Costo materia prima utilizada	\$5.51	\$5.44
Costo energético agitador pequeño	\$0.40	\$0.40
Costo energético baño ultrasónico	\$0.01	\$0.01
Costo energético total	\$0,41	\$0,41
Costo del residuo	-	\$1.32
Costo del extracto	-	\$0.09
Costo de la mezcla	-	\$1.41
Costo total del biorecubrimiento	\$5,92	\$7.26
Costo del envase	\$0.50	\$0.50
Costo de 1L de biorecubrimiento con envase	\$6.42	\$7.76
Costo total del biorecubrimiento con ganancia del 30%	\$8.34	\$10.08

Capítulo 4

4. Conclusiones y Recomendaciones

4.1 Conclusiones

- Se formuló un biorecubrimiento con componentes naturales, integrando en su matriz el extracto de *Sapindaceae* y el residuo de *Lamiaceae* con el fin de potenciar su barrera de protección. Se verificó *in vitro* la capacidad inhibitoria de más del 50% para el *Sapindaceae* y del 100% para el *Lamiaceae* frente a los fitopatógenos *Collectotrichum musae* y *Lasiodiplodia theobromae*. Las pruebas *in vivo* comprobaron que la mezcla optimizada ayuda a conservar el fruto, retardando el deterioro de sus propiedades como la pérdida de peso, color e incidencia de la enfermedad en el período postcosecha.
- Los métodos de extracción utilizados fueron igual de efectivos para incrementar el rendimiento del proceso, se obtuvo un 49.81 ± 0.01 % para la maceración y un 50.61 ± 0.03 % para el hidroalcohólico asistido por ultrasonido. Se determinó mediante pruebas *in vitro* que los extractos elaborados por maceración presentan una mayor capacidad antifúngica en comparación con los obtenidos por el proceso hidroalcohólico asistido por ultrasonido. Este presentó una inhibición del crecimiento micelial del *Collectotrichum musae* de más del 50% en tres de las concentraciones evaluadas. Considerando a este método como es el más beneficioso para la elaboración del biorecubrimiento.
- Se aplicó la metodología de superficie de respuesta basado en el diseño central compuesto, para ello se evaluaron individualmente los componentes y se obtuvieron sus concentraciones mínimas inhibitorias. Para el extracto de *Sapindaceae* fue de 1 mg/mL y para el residuo de *Lamiaceae* un 20% en concentración. Las combinaciones derivadas del diseño central compuesto permitieron obtener los resultados que mediante el uso de paquetes estadísticos de superficie de respuesta mostraron la mezcla óptima de los componentes evaluados que inhibe el 100% del crecimiento micelial de ambos fitopatógenos. Además de

potenciarse uno con el otro, le proporciona un perfil antioxidante interesante que sostiene a esta mezcla como un prospecto de bioinsumo.

- El biorecubrimiento con mezcla (extracto y residuo), redujo la pérdida de peso en un 52.27 ± 63.45 %, la maduración de la fruta en relación al color en un 22.59 ± 0.00 % y la incidencia de la enfermedad en un 41.67 ± 0.00 % con respecto al control negativo donde la fruta está expuesta a los fitopatógenos sin ningún tipo de conservante. El biorecubrimiento es efectivo para la preservación de esta fruta, aportándole un valor agregado al mismo y contribuyendo a la conservación del ambiente. Este tiene un comportamiento similar que el control positivo, lo que le convierte en una alternativa de reemplazo de agroquímicos en los sistemas agrícolas.

4.2 Recomendaciones

- Explorar la incorporación de nuevos agentes bioactivos naturales, como extractos de plantas locales o subproductos agroindustriales, que puedan mejorar las propiedades antifúngicas y antioxidantes del biorecubrimiento. Este enfoque puede incluir la evaluación de la sinergia entre diferentes extractos y su efecto en la estabilidad del biorecubrimiento.
- Integración del biorecubrimiento con otros métodos de conservación, como el uso de refrigeración controlada, para potenciar los efectos preservantes. La combinación de tecnologías puede ser evaluada para optimizar la conservación de la calidad de la pitahaya durante el transporte y almacenamiento prolongado.
- Realizar un análisis detallado para evaluar cómo el biorecubrimiento influye en las características percibidas de la pitahaya, como el sabor, aroma, textura y apariencia. Este análisis debe ser complementado con estudios de almacenamiento para entender el impacto del recubrimiento en la percepción del producto y su aceptación por parte del consumidor final.

- Realizar pruebas fisicoquímicas como la acidez titulable y sólidos solubles que son parámetros importantes que determinan la madurez de la fruta y permiten evaluar la eficacia de los productos destinados a la preservación de las propiedades. Esto ligado a la calidad y la comercialización internacional.

5. Referencias

Abreu, O. (2005). Potencial medicinal del género *Sapindus* L. (Sapindaceae) y de la especie *Sapindus saponaria* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 10.

ABUGHRIN, S., ALSHANA, U., & CALEB, J. (2022). Smartphone Digital Image Colorimetry for the Determination of Aluminum in Antiperspirant Products. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(6), 618–625. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2021.18828>

Aguilar-Duran, J. A., León, I. G., & Velásquez, J. D. C. Q. (2020). Alargamiento De La Vida De Anaquel De Las Frutas Por El Uso De Biopelículas. *Revista Boliviana de Química*, 37(1), 40–45.

Alcívar Bazurto, M. C., Vargas Zambrano, P. A., Cuenca Nevárez, G., & Talledo Solórzano, V. (2021). Determinación de propiedades antimicrobianas y termofísicas en un producto cárnico con adición del hidrolato de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y tomillo (*Thymus vulgaris*)". *Polo del Conocimiento: Revista científico - profesional*, 6(3), 1493–1512.

Ali, A., Muhammad, M. T. M., Sijam, K., & Siddiqui, Y. (2011). Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food Chemistry*, 124(2), 620–626. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.085>

Ali, A., Zahid, N., Manickam, S., Siddiqui, Y., Alderson, P. G., & Maqbool, M. (2013). Effectiveness of submicron chitosan dispersions in controlling anthracnose and maintaining quality of dragon fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.027>

Al-Mekhlafi, N. A., Mediani, A., Ismail, N. H., Abas, F., Dymerski, T., Lubinska-Szczygeł, M., Vearasilp, S., & Gorinstein, S. (2021). Metabolomic and antioxidant properties

of different varieties and origins of Dragon fruit. *Microchemical Journal*, 160, 105687.

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105687>

Arcila-Lozano, C. C., Loarca-Piña, G., Lecona-Uribe, S., & González de Mejía, E. (2004). El orégano: Propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(1), 100–111.

Arias Inca, A., Barba Cuenca, T., Bastidas Tene, K., & Heredia Villamarín, M. (2021). *Boletín Situacional Cultivo de Pitahaya*.

http://sipa.agricultura.gob.ec/boletines/situacionales/2021/boletin_situacional_pitahaya_2021.pdf

Ascencio Bricio, L. Y. (2020). *Análisis de Exportación de la Pitahaya ecuatoriana hacia mercados internacionales* [Thesis].

<http://biblioteca.uteg.edu.ec/xmlui/handle/123456789/1108>

Balendres, M. A., & Bengoa, J. C. (2019). Diseases of dragon fruit (*Hylocereus* species): Etiology and current management options. *Crop Protection*, 126, 104920.

<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104920>

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.

<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

Balseca Pachar, A. M., & Vargas Rumazo, N. A. (2024). *Desarrollo de biorecubrimiento con potencial antifúngico aplicado al banano postcosecha*.

<http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/60885>

Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., Casanoves, F., Di Rienzo, J., & Robledo, C. (2008). Infostat: Manual del usuario. In *Córdoba: Editorial Brujas*.

Bello, S., Echevarría, C., Bello, N., Borjas-Ventura, R., Alvarado-Huamán, L., Castro-Cepero, V., Julca-Otiniano, A., Bello, S., Echevarría, C., Bello, N., Borjas-Ventura,

R., Alvarado-Huamán, L., Castro-Cepero, V., & Julca-Otiniano, A. (2022). Control in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de la pitaya amarilla de Huambo (*Selenicereus megalanthus*). *Idesia (Arica)*, *40*(3), 75–80. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292022000300075>

Benítez-Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., Gallo-Corredor, J. A., Pacheco, N. O. P., Sandoval, J. H. Á., & Aristizabal, C. I. G. (2019). Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, *15*(1), Article 1. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3597>

Bezerra, K. G. O., Silva, I. G. S., Almeida, F. C. G., Rufino, R. D., & Sarubbo, L. A. (2021). Plant-derived biosurfactants: Extraction, characteristics and properties for application in cosmetics. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *34*, 102036. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102036>

Bordoh, P. K., Ali, A., Dickinson, M., & Siddiqui, Y. (2020). Antimicrobial effect of rhizome and medicinal herb extract in controlling postharvest anthracnose of dragon fruit and their possible phytotoxicity. *Scientia Horticulturae*, *265*, 109249. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109249>

Bullor, L., Braude, H., Monzón, J., Cotes, A., Casavola, V., Carbajal, N., & Risopoulos, J. (2023). Bioinsumos: Oportunidades de inversión en América Latina. *Dirección de inversión*, *9*, 170. <https://doi.org/10.4060/cc9060es>

Burke, N. (2021, August 30). *How to Grow Oregano Plants* • Gardenary. Gardenary. <https://www.gardenary.com/blog/how-to-grow-oregano-plants>

Cardoso, P. (2023, November 25). *Pitaya, la fruta del dragón que vuelve locos a los foodies más exigentes*. La Vanguardia. <https://www.lavanguardia.com/comer/materia-prima/20220315/1613/pitaya-propiedades-beneficios-valor-nutricional.html>

Carmona Gallegos, X. A. (2008). *Modelación y optimización de una línea de producción a través de las metodologías de superficie de respuesta y algoritmos evolutivos*. [bachelorThesis, Espol]. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/31882>

Carrasco Cabrera, L., Di Piazza, G., Dujardin, B., & Medina Pastor, P. (2023). The 2021 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA Journal*, 21(4), e07939. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7939>

Cheah, L. H., Page, B. B. C., & Shepherd, R. (2013). Chitosan coating for inhibition of sclerotinia rot of carrots. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 25(1), 89–92. <https://doi.org/10.1080/01140671.1997.9513992>

Córdova Oñate, H. E., & Castro Arteaga, C. (2022). *Manejo agronómico del cultivo de pitahaya amarilla (Selenicereus megalanthus) en el Ecuador*. [bachelorThesis, BABAHOYO: UTB, 2022]. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/11372>

Cox, K., Mcghie, T., White, A., & Woolf, A. (2004). Skin color and pigment changes during ripening of “Hass” avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology - POSTHARVEST BIOL TECHNOL*, 31, 287–294. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.008>

Duarte Pasaguay, C. G., Tomalá Reyes, C. J., & Manzano Santana, P. I. (2022). *Valoración de la actividad antifúngica in vitro de dos aceites esenciales para la inhibición del crecimiento de lasiodiplodia theobromae patógeno de banano y cacao post cosecha*. [Thesis, ESPOL. FCNM]. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/56645>

Erhonyota, C., Edo, G. I., & Onoharigho, F. O. (2023). Comparison of poison plate and agar well diffusion method determining the antifungal activity of protein fractions. *Acta Ecologica Sinica*, 43(4), 684–689. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2022.08.006>

FAO publications catalogue 2023. (2023). FAO. <https://doi.org/10.4060/cc7285en>

Fernandes, F. de F., Freitas, E. de P. e S., Costa, A. C. da, & Silva, I. G. da. (2005). Larvicidal potential of *Sapindus saponaria* to control the cattle tick *Boophilus microplus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *40*, 1243–1245. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2005001200013>

García Ángeles, B., Soto Simental, S., González Tenorio, R., & Ayala Martínez, M. (2022). Efecto del hidrolato de orégano (*Oreganum vulgare*) sobre algunas características de calidad de nuggets elaborados con carne de conejo. *Nacameh*, *16*(1), 39–49.

Gasca, C. A., Dassoler, M., Dotto Brand, G., de Medeiros Nóbrega, Y. K., Gomes, S. M., Masrouah Jamal, C., de Oliveira Magalhães, P., Fonseca-Bazzo, Y. M., & Silveira, D. (2020). Chemical composition and antifungal effect of ethanol extract from *Sapindus saponaria* L. fruit against banana anthracnose. *Scientia Horticulturae*, *259*, 108842. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108842>

Gimeno, J. (2008, June 17). Tomillo (Thymus)—Usos, beneficios y propiedades | Ecomaria. *Blog de cultivo - Especializados en lo natural | Ecomaria*. <https://ecomaria.com/blog/tomillo-usos-propiedades-medicinales-bactericidas/>

Goyal, S. (2014). MEDICINAL PLANTS OF THE GENUS *SAPINDUS* (SAPINDACEAE)—A REVIEW OF THEIR BOTANY, PHYTOCHEMISTRY, BIOLOGICAL ACTIVITY AND TRADITIONAL USES. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, *4*(5), Article 5. <https://doi.org/10.22270/jddt.v4i5.949>

Grisi, P. U., Ranal, M. A., Gualtieri, S. C. J., & Santana, D. G. (2012). Allelopathic potential of *Sapindus saponaria* L. leaves in the control of weeds. *Acta Scientiarum Agronomy*, *34*, 1–9. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v34i1.11598>

Huachi, L., Yugsi, E., Paredes, F., Coronel, D., Verdugo, K., & Santamaría, P. (2015). DEVELOPMENT OF PITAHAYA (*Cereus* SP.) IN ECUADOR. *La Granja: Revista de Ciencias de La Vida*, *23*, 50–58. <https://doi.org/10.17163/lgr.n22.2015.05>

Idrovo-Novillo, J., Gavilanes-Terán, I., Angeles Bustamante, M., & Paredes, C. (2018). Composting as a method to recycle renewable plant resources back to the ornamental plant industry: Agronomic and economic assessment of composts. *Process Safety and Environmental Protection*, *116*, 388–395. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.03.012>

Kan, J., Liu, J., Yong, H., Liu, Y., Qin, Y., & Liu, J. (2019). Development of active packaging based on chitosan-gelatin blend films functionalized with Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) fruit extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, *140*, 384–392. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.155>

Khan, S. H., Aked, J., & Magan, N. (2008). Control of the anthracnose pathogen of banana (*Colletotrichum musae*) using antioxidants alone and in combination with thiabendazole or imazalil. *Plant Pathology*, *50*(5), 601–608. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00599.x>

Kola, V., & Carvalho, I. S. (2023). Plant extracts as additives in biodegradable films and coatings in active food packaging. *Food Bioscience*, *54*, 102860. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102860>

Krah, F., & Schaefer, H. (2019, July 2). *The secret of mushroom colors*. <https://www.tum.de/en/news-and-events/all-news/press-releases/details/35551>

Lozada, L. F., Aguilar, C. N., Vargas, C. L., Bedoya, C. M., & Serna-Cock, L. (2022). Biological control for basal rot in yellow pitahaya fruits (*Selenicereus megalanthus*): Ex vivo trials. *Journal of King Saud University - Science*, *34*(5), 102042. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102042>

Madera-Santana, T. J., Toledo-López, V. M., Martínez-Robison, K., Rejón-Moo, V., & Hernández, J. F. (2023). La Evaluación de películas comestibles de quitosano, agar y tomillo para mantener la calidad de frutos de aguacate ‘Hass’ durante su almacenamiento. *Biocencia*, *25*(1), Article 1. <https://doi.org/10.18633/biocencia.v25i1.1728>

Maldonado Ontaneda, A. P. (2015). *Estudio comparativo del impacto ambiental en una hacienda bananera orgánica versus una hacienda bananera de manejo convencional* [bachelorThesis]. <http://dspace.utpl.edu.ec/jspui/handle/20.500.11962/21853>

Menéndez, G., Bonavetti, V. L., & Irassar, E. F. (2008). Los diseños de experimentos y la tecnología del hormigón. *Revista de la Construcción*, 7(1), 94–104.

Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2023, December 21). *Cerca de 200 productores de pitahaya, de Palora, reciben maquinaria*. <https://www.agricultura.gob.ec/cerca-de-200-productores-de-pitahaya-de-palora-reciben-maquinaria/>

Moghimpour, E., & Handali, S. (2015). Saponin: Properties, Methods of Evaluation and Applications. *Annual Research & Review in Biology*, 5(3), 207–220. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2015/11674>

Montgomery, D. C. (2013). *Design and analysis of experiments* (Eighth edition). John Wiley & Sons, Inc.

Morillo Coronado, A. C., Manjarres Hernández, E. H., Pedreros Benavides, M. C., Sanabria Higuera, D. I., Lizarazo Forero, L. M., Morales Castaño, I. T., Pérez Martínez, R. N., Ruíz Rosas, I. D., & Velásquez Arias, J. O. (2022). *Plan de manejo tecnológico del cultivo de la pitahaya*. <https://repositorio.uptc.edu.co/handle/001/9055>

Muñoz Vera, M. S., & Tapia Buñay, A. E. (2022). *La producción y exportación de pitahaya y sus derivados. Alternativa para aumentar la oferta exportable del Ecuador*. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/65745>

Muñoz-Tebar, N., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J., & Viuda-Martos, M. (2023). Chitosan Edible Films and Coatings with Added Bioactive Compounds: Antibacterial and Antioxidant Properties and Their Application to Food Products: A Review. *Polymers*, 15(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/polym15020396>

Muzzio Villafuerte, M. D., Segovia Loor, K. M., & Manzano Santana, P. (2021). *Bioprospección de especies con actividad antimicrobiana In vitro contra patógenos de cacao y banano* [Thesis, ESPOL. FCNM].

<http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/54379>

Nguyen, H. T., Boonyariththongchai, P., Buanong, M., Supapvanich, S., & Wongs-Aree, C. (2021). Chitosan- and κ -carrageenan-based composite coating on dragon fruit (*Hylocereus undatus*) pretreated with plant growth regulators maintains bract chlorophyll and fruit edibility. *Scientia Horticulturae*, 281, 109916.

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109916>

Nunes, C., Silva, M., Farinha, D., Sales, H., Pontes, R., & Nunes, J. (2023). Edible Coatings and Future Trends in Active Food Packaging—Fruits' and Traditional Sausages' Shelf Life Increasing. *Foods*, 12(17), 3308. <https://doi.org/10.3390/foods12173308>

Oeurn, S., Jitjak, W., & Sanoamuang, N. (2015). Fungi on Dragon Fruit in Loei Province, Thailand and the Ability of *Bipolaris cactivora* to Cause Post-harvest Fruit Rot. *KKU Research Journal*, 20, 405–418. <https://doi.org/10.14456/kkurj.2015.34>

Osuna Enciso, T., Ibarra Zazueta, M. E., Muy Rangel, M. D., Valdez Torres, J. B., Villarreal Romero, M., & Hernández Verdugo, S. (2011). Calidad postcosecha de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus* Haw.) cosechados en tres estados de madurez. *Revista fitotecnica mexicana*, 34(1), 63–72.

Pabon-Montoya, B., Córdova-Chávez, M., Alban-Alcivar, J., & Jaramillo-Robles, A. (2024). Efectos antifúngicos de extractos botánicos sobre el crecimiento micelial de *Colletotrichum* sp. A nivel in vitro, causante de antracnosis en la fruta de aguacate. 593 *Digital Publisher CEIT*, 9, 869–879. <https://doi.org/10.33386/593dp.2024.1.2218>

Passos Marinho, G., Klein, D., & Siqueira Junior, C. L. (2018). Evaluation of soapberry (*Sapindus saponaria* L.) leaf extract against papaya anthracnose. *Summa Phytopathologica*, 44, 127–131. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/175605>

Pham, B.-T. T., Hoang, H.-N. T., Trinh, C. D., Bui, Q. T. P., Phung, T. K., & Nguyen, T. T. (2023). Development of gelatin/agarose active coatings functionalized with *Ocimum gratissimum* L. essential oil for enhancing storability of ‘Booth 7’ avocado. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127516. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127516>

Pilozo, G., Villavicencio-Vásquez, M., Chóez-Guaranda, I., Murillo, D. V., Pasaguay, C. D., Reyes, C. T., Maldonado-Estupiñán, M., Ruiz-Barzola, O., León-Tamariz, F., & Manzano, P. (2024). Chemical, antioxidant, and antifungal analysis of oregano and thyme essential oils from Ecuador: Effect of thyme against *Lasiodiplodia theobromae* and its application in banana rot. *Heliyon*, 10(10), e31443. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31443>

Pizarro, D. A., Rojas, I., Alberca, E., Sime, K., Álvarez, L. A., Peña, R., Aguilar Ancota, R., Galecio-Julca, M., & Javier Alva, J. (2023). ALTERNATIVAS SOSTENIBLES PARA EL CONTROL DE *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl EN MANGO. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 27. <https://doi.org/10.56369/tsaes.4839>

PRO ECUADOR. (2016). *PROEC AS2016 PITAHAYA*. 11.

Restrepo, M. V., Ospina, J. D., Londoño-Hernández, L., & Restrepo, R. A. R. (2023). Sistema de medición del color como parámetro de calidad en la industria de alimentos. *Temas Agrarios*, 28(1), Article 1. <https://doi.org/10.21897/rta.v28i1.3200>

Roy, S., Min, S.-J., & Rhim, J.-W. (2023). Essential Oil-Added Chitosan/Gelatin-Based Active Packaging Film: A Comparative Study. *Journal of Composites Science*, 7(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/jcs7030126>

Ruiz Agila, G. (2022, November 28). *Pitahaya: Un cultivo “de oro” que impacta en la pérdida de bosques nativos en la Amazonía ecuatoriana*. Plan V.

<https://www.planv.com.ec/historias/plan-verde/pitahaya-un-cultivo-oro-que-impacta-la-perdida-bosques-nativos-la-amazonia>

Sarengaowa, Wang, L., Liu, Y., Yang, C., Feng, K., & Hu, W. (2022). Screening of Essential Oils and Effect of a Chitosan-Based Edible Coating Containing Cinnamon Oil on the Quality and Microbial Safety of Fresh-Cut Potatoes. *Coatings*, 12(10), Article 10.

<https://doi.org/10.3390/coatings12101492>

Sena, D., Caetano, C., & Bonilla Morales, M. (2014). CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y PROXIMAL DEL FRUTO DE PITAHAYA AMARILLA [Selenicereus megalanthus (K. SCHUM. EX VAUPEL) MORAN] CULTIVADA EN COLOMBIA. *Agronomía*, 22, 77–87.

Solano-Doblado, L. G., Alamilla-Beltrán, L., Jiménez-Martínez, C., Solano-Doblado, L. G., Alamilla-Beltrán, L., & Jiménez-Martínez, C. (2018). Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.153>

Tongsri, V., Sanosomneng, K., Umrung, S., & Montri, N. (2022). Antagonistic activity of *Candida utilis* SCKU1 yeast against crown rot disease of ‘Hom Thong’ Banana (*Musa acuminata*, AAA group). *International Journal of Agricultural Technology* 2022, 18, 22.

Torrenegra, M., Pajaro, N., & Méndez, G. (2017). Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de diferentes especies del género *Citrus*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 46. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v46n2.67934>

Universidad EIA. (2022). *Chumbimbo, jaboncillo (Sapindus saponaria)*. <https://catalogofloravalleaburra.eia.edu.co/species/154>

Valencia-Botín, A. J., Kokubu, H., & Ortíz-Hernández, Y. D. (2013). A brief overview on pitahaya (*Hylocereus* spp.) diseases. *Australasian Plant Pathology*, *42*(4), 437–440. <https://doi.org/10.1007/s13313-012-0193-8>

Vargas, Y., Pico, J., Díaz, A., Sotomayor, D., Burbano, A., Vargas, C., Paredes, N., Congo Yépez, C., Jaramillo, L., Bastidas, S., Chuquimarca, J., Macas, J., & Viera, W. (2020). *Manual del Cultivo de Pitahaya para la Amazonía Ecuatoriana*.

Vásquez, W., Aguilar, K., Vilaplana, R., Viteri, P., Viera, W., & Valencia-Chamorro, S. (2016). Calidad del fruto y pérdidas poscosecha de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw.) en Ecuador. *Agronomía Colombiana*, *34*, 1081–1083. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n1supl.58279>

Verona-Ruiz, A., Urcia-Cerna, J., Paucar-Menacho, L. M., Verona-Ruiz, A., Urcia-Cerna, J., & Paucar-Menacho, L. M. (2020). Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Cultivo, características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos. *Scientia Agropecuaria*, *11*(3), 439–453. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.16>

Vilaplana, R., Páez, D., & Valencia-Chamorro, S. (2017). Control of black rot caused by *Alternaria alternata* in yellow pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) through hot water dips. *LWT - Food Science and Technology*, *82*, 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.042>

Vilaplana, R., Pazmiño, L., & Valencia-Chamorro, S. (2018). Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*, on postharvest organic banana by thyme oil. *Postharvest Biology and Technology*, *138*, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.12.008>

Viteri, R., Giordano, A., Montenegro, G., & Zacconi, F. (2021). *Eucryphia cordifolia* extracts: Phytochemical screening, antibacterial and antioxidant activities. *Natural Product Research*, *36*. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1960525>

Yagual, D., Villavicencio-Vasquez, M., Chavez, J., Puebla, E., Cornejo-Franco, J., Coronel-León, J., Keener, K., & Yopez, X. (2023). Control of crown rot on Cavendish banana by high voltage atmospheric cold plasma treatment. *Journal of Food Engineering*, 357, 111654. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111654>

Yang, Y., Dong, G., Wang, M., Xian, X., Wang, J., & Liang, X. (2021). Multifungicide resistance profiles and biocontrol in *Lasiodiplodia theobromae* from mango fields. *Crop Protection*, 145, 105611. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105611>

Yumbla Crespo, J. B. (2022). *Aislamiento, caracterización e identificación de hongos filamentosos asociados con síntomas de cáncer en plantaciones de pitahaya (Hylocereus spp.)*. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/17816>

Apéndice A

PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN

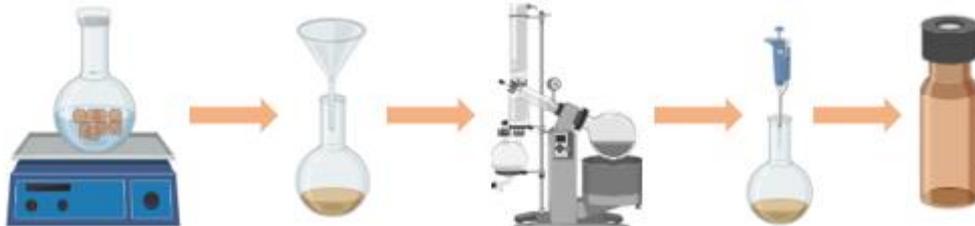
MATERIALES

Reactivos		
Etanol al 100%	Quitosano	Biorecubrimiento
Pericarpio del Jaboncillo	Gelatina	140 pitahaya
DMSO	Ácido acético al 1% v/v	Hipoclorito de sodio al 1%
	Agua destilada	Pesticidas
		Agua purificada
Equipos		
Extracción	Biorecubrimiento	<i>In vivo</i>
Agitador orbital	Agitador orbital	pHchímetro
Balanza analítica	Agtador orbital con calentamiento	Refractometro
Molino	Balanza analítica	Balanza
Estufa	Desecador	Procesador de líquidos
Rotavapor		
Instrumentos		
Balones base plana de 250 mL	Strech Film	Cartones
Embudo de vidrio	Frascos ámbar de 35 mL	Vasos de precipitación
Papel filtro	Placas Petri de 9 cm	Botellas plásticas
Probeta de 100 mL	Matraces volumétricos	

PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

1. Mezclar en un balón 20 g del pericarpio del *Sapindus saponaria* con 120 mL de etanol al 100%.
2. Agitar la mezcla de manera continua durante 72 horas a temperatura ambiente a 110 RPM
3. Filtrar por gravedad con papel filtro la solución obtenida de la maceración

4. Rotaevaporar la solución a 50°C y 120 RPM para recuperar el solvente de extracción, utilizar la trampa clevenger en esta estación
5. Diluir el extracto rotaevaporado con etanol y DMSO al 30%.
6. Almacenar los extractos purificado en frascos ámbar de 35 mL a 4°C



PROTOCOLO DE PREPARACIÓN DEL BIORECUBRIMIENTO

1. Mezclar 10 mL de ácido acético en 1L de agua destilada
2. Añadir 15 g de quitosano alimenticio en la solución, agitar la solución durante 5 horas a 50 °C
3. Añadir 20 g de gelatina a la solución, agitar durante 1 hora a 50°C
4. Añadir 4.5 mL de glicerina. Agitar durante 30 minutos sin calentamiento
5. Ajustar la concentración de la combinación óptima
6. Desgasificar la solución durante 30 minutos
7. Envasar en botellas

PROTOCOLO DEL USO DEL CÓDIGO DE PYTHON DE RGB

Objetivo: Obtener los valores RGB de imágenes centradas y recortadas manualmente para garantizar la uniformidad en el análisis.

Materiales Necesarios:

- Computadora con acceso a Google Colab (o un entorno Python compatible con OpenCV, NumPy, Pandas y la librería files de Google Colab).

- Imágenes previamente centradas y recortadas manualmente, guardadas en formato PNG o JPEG.
- Conexión a Internet (para subir las imágenes y descargar los resultados).

Software Requerido:

- Python 3.x
- Librerías: cv2 (OpenCV), numpy, pandas, os, files (si se usa Google Colab)

Procedimiento:

1. Preparación de las Imágenes:

Asegúrate de que todas las imágenes estén centradas y recortadas manualmente para que tengan las mismas dimensiones y el objeto de interés esté bien posicionado en el centro.

2. Subida de Imágenes:

Si estás utilizando Google Colab, ejecuta el bloque de código para subir las imágenes. Asegúrate de que las imágenes estén en un formato compatible (.png, .jpg). Las imágenes se almacenarán en una carpeta temporal dentro del entorno de ejecución.

3. Ejecución del Código:

Utiliza el siguiente código para leer los valores RGB de las imágenes y guardarlos en un archivo Excel. Primero instalar las librerías correspondientes.

```
!pip install pillow pandas openpyxl
```

Ahora utilizar el siguiente código:

```
from PIL import Image
from google.colab import files
import pandas as pd

# Función para obtener los valores RGB de puntos específicos en una
imagen
def get_specific_rgb_values(image_path):
    # Abrir la imagen
    img = Image.open(image_path)
    # Convertir la imagen a RGB
    img = img.convert("RGB")

    # Obtener las dimensiones de la imagen
    width, height = img.size
    center_x, center_y = width // 2, height // 2

    # Puntos específicos
    points = [
        (center_x, center_y), # Centro
        (center_x, max(center_y - 50, 0)), # 50 píxeles arriba del
centro
        (center_x, min(center_y + 50, height - 1)) # 50 píxeles
abajo del centro
    ]
```

```

# Obtener los valores RGB de los puntos específicos

rgb_values = {point: img.getpixel(point) for point in points}

return rgb_values

# Preguntar cuántos grupos hay
num_groups = int(input("¿Cuántos grupos de imágenes quieres procesar?
"))

# Diccionario para almacenar los datos de todos los grupos
all_data = {}

for group in range(1, num_groups + 1):
    print(f"Sube las imágenes para el grupo {group}")
    uploaded = files.upload()

    # Lista para almacenar los datos de cada grupo
    data = []

    # Procesar cada imagen y obtener los valores RGB en puntos
    específicos
    for image_name in uploaded.keys():
        rgb_values = get_specific_rgb_values(image_name)
        for point, rgb in rgb_values.items():
            data.append([image_name, point, rgb[0], rgb[1], rgb[2]])

    # Crear un DataFrame de pandas con los datos recopilados
    df = pd.DataFrame(data, columns=["Imagen", "Punto", "R", "G",
"B"])

```

```
all_data[f"Grupo {group}"] = df

# Guardar todos los DataFrames en un solo archivo Excel con hojas
separadas
output_excel_path = '/content/valores_rgb.xlsx'
with pd.ExcelWriter(output_excel_path, engine='openpyxl') as writer:
    for sheet_name, df in all_data.items():
        df.to_excel(writer, sheet_name=sheet_name, index=False)

# Descargar el archivo Excel
files.download(output_excel_path)
```

4. Modificación de los Puntos de Muestra:

Para cambiar los puntos donde se toman las muestras, puedes modificar la línea donde se define la variable `positions` dentro de la función `read_rgb_values`.

La línea `positions = [center_y - 50, center_y, center_y + 50]` determina que las muestras se tomen 50 píxeles arriba, justo en el centro, y 50 píxeles abajo del centro de la imagen. Puedes ajustar estos valores para cambiar las posiciones verticales de las muestras, o incluso añadir más puntos de muestra si lo deseas.

5. Almacenamiento de los Resultados:

Los valores RGB obtenidos se guardarán en un archivo Excel (`rgb_values.xlsx`) con tres hojas separadas, cada una correspondiente a uno de los canales de color (rojo, verde y azul). Descarga el archivo Excel generado desde el entorno de ejecución.

Anexos

Proceso de maceración para la obtención del extracto de *Sapindaceae*



Proceso de estudio *in vitro* e *in vivo*:

